

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Fyziologie živočichů



Bc. Čestmír Vejmola

EEG KORELÁTY ÚČINKU SEROTONERNÍCH
HALUCINOGENŮ U LABORATORNÍHO POTKANA

EEG CORRELATES OF THE EFFECT OF SEROTONERGIC
HALLUCINOGENS IN THE LABORATORY RAT

Diplomová práce

Školitel: MUDr. Filip Tyliš

Praha 2016

Prohlášení autora práce

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracoval samostatně a uvedl veškeré použité informační zdroje. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného či stejného akademického titulu.

V Praze dne 15. 8. 2016

.....

Bc. Čestmír Vejmola

Poděkování

Touto cestou děkuji svému školiteli MUDr. Filipu Tylšovi, za mé uvedení do kolektivu výzkumného týmu Biochemie a patofyziologie mozku, za metodologické i teoretické zaučení a za veškerý čas nad vypracováním této práce strávený. Dále děkuji svým kolegyním Mgr. Kláře Šíchové, Mgr. et Mgr. Kristýně Štefkové a Mgr. Nikole Pinterové, za podporu a výpomoc při statistickém zpracování dat. Děkuji laboratorním pracovnícím za výpomoc při provádění pokusů, jmenovitě Ing. Evě Lhotkové, Věře Vernerové, Daně Budínové a Kateřině Horníkové. Děkuji také MUDr. Tomáši Páleníčkovi PhD., vedoucímu našeho výzkumného týmu Národního Ústavu Duševního Zdraví (NÚDZ) zaměřeného na psychedelické látky, za cenné rady a obstarání financí na uskutečnění experimentů. Děkuji vedoucí laboratoře, RNDr. Daniele Řípové, CSc. a jejímu následovníkovi, Dr. ret. nat. Danielu Kapingovi, za mé vřelé přijetí. V poslední řadě děkuji svým rodičům a kamarádům za jejich podporu a také České Psychedelické Společnosti (CZEPS) za umožnění prezentace dat této diplomové práce na mezinárodní konferenci.

Abstrakt

Serotonergní halucinogeny (tzv. klasická psychedelika), zahrnující psilocybin, diethylamid kyseliny lysergové (LSD), meskalin a DOB, představují skupinu psychoaktivních substancí, které u člověka výrazně ovlivňují vnímání, myšlení, emotivitu a kognitivní funkce. Všechny známé látky tohoto původu jsou agonisté serotoninových 5-HT_{2A} receptorů a navozují rozsáhlé změny psychiky díky široké distribuci těchto receptorů v celém mozku. Již před šedesáti lety byla upozorována podobnost mezi psychotickým stavem a stavem navozeným těmito látkami. Dnes je abnormální funkce serotonergního systému jedním z vysvětlení psychotických onemocnění a proto je serotonergních halucinogenů využíváno v animálních modelech k modelování schizofrenie. Moderní neurobiologické metody pomalu odkrývají způsoby, jakými serotoninový systém interaguje s ostatními neurotransmiterovými systémy a přispívá k tak komplexním funkcím jako je lidské vědomí. Ačkoliv změny v aktivitě mozku člověka v psychotickém stavu i stavu intoxikace psychedeliky byly do značné míry teoreticky objasněny, u zvířete experimentální důkaz zapadající do tohoto teoretického rámce doposud chybí.

V první části této práce jsou shrnuty poznatky týkající se fenomenologie, neurobiologie a elektrofyziologie psychedelik. V druhé, praktické části, jsou popsány vlastní experimentální výsledky – změny v kvantitativní elektrofyziologii mozku potkana indukované psychedelickými látkami. Různé indolaminové i fenylethylaminové serotonergní halucinogeny způsobily velmi podobné změny – lokální desynchronizaci (snížení EEG spektrálního výkonu) a snížení konektivity mozku (snížení EEG koherencí). Tyto výsledky do velké míry odpovídají změnám pozorovaným u lidských subjektů a práce tak potvrzuje translační validitu animálního modelu.

Klíčová slova: serotonergní halucinogeny; psychedelika; LSD; psilocybin; meskalin; DOB; kvantitativní EEG; spektrální výkon; EEG koherence

Abstract

Serotonergic hallucinogens (ie. the classic psychedelics), including psilocybin, lysergic acid diethylamide (LSD), mescaline and DOB, represent a group of psychoactive substances that profoundly affect human perception, thinking, affectivity and cognitive functions. All known agents of such origin are agonists of the serotonin 5-HT_{2A} receptors and induce large changes in the psyche due to the wide distribution of these receptors throughout the brain. The similarities between psychotic state and the state induced by these substances were noticed sixty years ago. Today, an abnormal function of serotonergic system is one of the explanations of psychotic disorders and serotonergic hallucinogens are therefore used in animal models as a model of schizophrenia. Modern neurobiological methods slowly reveal the ways in which serotonin system interacts with other neurotransmitter systems and contributes to such complex function as a human consciousness is. Although changes in the activity of the human brain in a psychotic state and the state of intoxication with psychedelics were largely theoretically unraveled, the animal experimental evidence fitting into this theoretical framework is still missing.

The first part of this thesis summarizes the findings regarding phenomenology, neurobiology and electrophysiology of psychedelics. In the second, practical part, experimental results – quantitative changes in the electrophysiology of rat brain induced by psychedelic substances are described. Various indolamine and phenylethylamine serotonergic hallucinogens induced very similar changes – local desynchronization (EEG spectral power decrease) and reduction of the brain connectivity (EEG coherence decrease). These results considerably reflect changes observed in human subjects and work thus confirms the validity of a translational animal model.

Keywords: serotonergic hallucinogens; psychedelics; LSD; psilocybin; mescaline; DOB; quantitative EEG; spectral power; EEG coherence

Obsah

1. Úvod.....	- 9 -
2. Literární přehled.....	- 11 -
2.1. Účinky psychedelických látek	- 11 -
2.1.1. Účinky na člověka.....	- 11 -
2.1.2. Účinky na potkana.....	- 13 -
2.2. Neurobiologie působení.....	- 15 -
2.2.1. Molekulární úroveň	- 15 -
2.2.2. Buněčná úroveň.....	- 18 -
2.2.3. Úroveň struktur mozku, zobrazovací studie.....	- 20 -
2.3. Základy EEG	- 23 -
2.3.1. Základní principy EEG.....	- 23 -
2.3.2. Mechanismus oscilací	- 23 -
2.3.3. Základní rozdělení EEG pásem a jejich původ	- 24 -
2.3.4. Kvantitativní elektroencefalografie (QEEG)	- 28 -
2.3.5. EEG koherence.....	- 29 -
2.4. Stručný přehled vybraných serotonergních halucinogenů.....	- 29 -
2.4.1. Indolaminy	- 30 -
2.4.2. Fenylethylaminy.....	- 32 -
2.5. EEG a psychedelika.....	- 34 -
2.5.1. Humánní EEG	- 34 -
2.5.2. Animální EEG	- 35 -
3. Cíle diplomové práce	- 37 -
4. Materiál a metody.....	- 37 -
4.1. Experimentální zvířata.....	- 37 -
4.2. Experimentální látky.....	- 37 -

4.3.	Experimentální postupy	- 38 -
4.3.1.	Stereotaktická operace.....	- 38 -
4.3.2.	Registrace EEG	- 39 -
4.3.3.	EEG analýza	- 40 -
4.4.	Statistika	- 41 -
5.	Výsledky.....	- 42 -
5.1	Srovnání účinku jednotlivých látek ve všech časech.....	- 42 -
5.2.	Srovnání účinků všech látek v jednotlivých časech	- 47 -
5.3.	EEG koherence	- 50 -
6.	Diskuze.....	- 55 -
6.1.	Spektrální výkon.....	- 55 -
6.2.	EEG koherence	- 57 -
6.3.	Translační validita serotoninergního modelu	- 57 -
7.	Závěr.....	- 59 -
8.	Seznam literatury.....	- 60 -
9.	Přílohy	- 71 -
9.1.	EEG nálezy schizofrenních pacientů	- 71 -
9.2.	Terapeutické využití	- 72 -
9.3.	Rizika.....	- 73 -
9.4.	Statistika	- 74 -
9.5.	Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání DOB vs. baseline.....	- 75 -
9.6.	Humánní QEEG po podání psilocybinu	- 76 -
9.7.	Obrazová příloha	- 77 -
9.8.	Poster z Interdisciplinary Conference on Psychedelics Research	- 78 -

Seznam zkratek

5-HT	5-hydroxytryptamin (serotonin)	IP3	inositoltrifosfát
AIA	Angstvolle IchAuflösung rozpad ega	IPSP	inhibiční postsynaptický potenciál
ACC	anterior cingulate cortex anteriorní cingulární kortex	LC	locus coeruleus
AP	akční potenciál	LD ₅₀	letální dávka
ASC	altered states of consciousness změněné stavy vědomí	LFPs	local field potentials potenciály lokálních polí
CEN	central executive network centrální exekutivní síť	LSD	N,N-diethylamid kys. lysergové
CNS	centrální nervová soustava	mPFC	mediální prefrontální kůra
CSTC	cortico-striato-thalamo-cortical kortiko-striato-thalamo-kortikální	MRN	medial raphe nuclei mediální rafeální jádra
DA	dopamin	NE	norepinefrin = noradrenalin
DAG	diacylglycerol	NMDA	N-methyl-D-aspartát
DMN	default mode network síť defaultního režimu	OSE	Ozeanische Selbstentgrenzung oceánská bezbřehost
DMT	N,N-dimethyltryptamin	PCC	posterior cingulate cortex posteriorní cingulární kortex
DOB	2,5-dimethoxy-4-bromoamfetamin	PET	pozitronová emisní tomografie
DRN	dorsal raphe nucleus dorsální rafeální jádro	PIP-2	fosfatidylinositolbisfosfát
ED ₅₀	efektivní dávka	PLA ₂	fosfolipáza A ₂
EEG	elektroencefalogram	PLC	fosfolipáza C
EPSP	excitační postsynaptický potenciál	PFC	prefrontal cortex prefrontální kůra
FFT	fast Fourier transformation rychlá Fourierova transformace	RSA	rhythmic slow aktivity pomalá rytmická aktivita
FIR	finite impulse response konečná impulzní odezva	SN	salience network salientní síť
GABA	kyselina γ -aminomáselná	SPF	specific pathogen free bez specifických patogenů
HTR	head-twitch response trhové pohyby hlavou	VTA	ventral tegmental area ventrální tegmentální oblast
IMAO	inhibitor monoaminoxidáz	VUS	Visionäre Umstrukturierung vizuální restrukturalizace

1. Úvod

Serotonergní halucinogeny jsou psychoaktivní látky, které silně mění vnímání, myšlení, emotivitu a kognitivní funkce. Na rozdíl od většiny zneužívaných drog nejsou toxické a nevyvolávají závislost, což jim zajišťuje unikátní postavení v psychofarmakologii (Nichols 2004) a potenciální terapeutické využití v současné psychiatrii (Nichols 2016; Tylš 2015). Jejich původ předchází psané historii, využívány byly v různých sociokulturních a rituálních kontextech, nejstarší nálezy se datují až 3700 let př. n. l. (El-Seedi et al. 2005). Naproti tomu do západní euro-americké kultury pronikla psychedelika teprve nedávno. V roce 1938 Albert Hofmann poprvé izoloval 25. derivát kyseliny lysergové, LSD-25 a až v roce 1943 náhodou objevil psychoaktivní účinky, které neobyčejně upoutaly pozornost jeho i celé akademické obce a takřka okamžitě začaly probíhat vědecké výzkumy. Během 60. let LSD proniklo do rukou veřejnosti a epidemickou rychlostí se rozšířilo do všech sociálních tříd, především v USA a Anglii. „Je samozřejmé, že látka s takovými fantastickými účinky na duševní vnímání a prožitky vnějšího i vnitřního světa může vyvolat též zájem nevědeckých kruhů, ale nemohl jsem předpokládat, že LSD se svou nepředvídatelnou zlověstností, hlubokými účinky a s tak rozdílnými vlastnostmi od ostatních rekreačních drog, může někdy nalézt světově rozšířenou podporu zneužívání jako omamné látky“ (A. Hofmann, LSD – Mé nezvedené dítě (Hofmann 1997)). Právě LSD mělo v USA na svědomí vznik a rozmach hnutí hippies a počínající sociální restrukturalizaci, v jejímž čele stál harvardský profesor Timothy Leary, který vybízel mladou generaci k opuštění konvencí a věnování života hledání sebe sama. Rychlá proměna společnosti vyvolala okamžitou odpověď ze strany zákonodárců. V roce 1968 bylo LSD spolu s ostatními psychedeliky zařazeno do první kategorie kontrolovaných substancí (tzv. Schedule I drugs ¹), kde se nachází do dnes i přesto, že např. psilocybin nesplňuje 2 ze 3 základních kritérií (a 3. je diskutabilní) zařazení na tento seznam (Tylš et al. 2014). Toto opatření, podložené politickou manipulací a celospolečenskou hysterií, spíše než seriózním výzkumem, znemožnilo další výzkum po téměř padesát let. Není nicméně pochyb, že LSD hrálo významnou roli při formování moderní euro-americké kultury a světa jak ho známe dnes. V období legálního výzkumu proběhlo několik tisíc klinických studií a bylo publikováno obrovské množství článků i knih. Objev LSD také významně přispěl k objasnění role serotoninu v mozku (Stafford 1997)

¹ Látka kategorie Schedule I by měla splňovat následující: 1) má vysoký potenciál zneužívání, 2) nemá v současné době přijatelné lékařské využití ve Spojených státech, 3) neexistuje dostatek přijatelných opatření pro využívání látky pod lékařským dohledem. Ze „známých“ drog do této kategorie patří např. heroin, MDMA nebo marihuana (THC) a také všechna psychedelika. Kokain, (met)amfetamin, opium a morfium jsou naproti tomu řazeny do kategorie Schedule II, s menšími restrikcemi.

a nepřímo tak facilitoval například vývoj moderních antidepresiv ² a pomohl osvětlit funkci některých tzv. atypických antipsychotik ³.

V prvních fázích výzkumu byl pro psychedelické látky používán termín psychomimetika, aby byl vyjádřen jejich potenciál imitovat některé projevy psychotických onemocnění na fenomenologické úrovni. Nejzávažnějším a nejznámějším z těchto onemocnění je schizofrenie. Fenomenologie schizofrenie sestává z tzv. pozitivních příznaků, které jsou přítomny častěji v rámci akutní ataky onemocnění (poruchy vnímání – např. halucinace, poruchy myšlení – bludy (nevývratné přesvědčení), inkoherece ⁴, poruchy emotivity – úzkostné stavy, euforie, emoční labilita) a negativních příznaků, které jsou typické pro chronifikovanou formu schizofrenie (apatie, abulie ⁵, anhedonie ⁶, kognitivní deficit). Serotonergní halucinogeny modelují především pozitivní příznaky schizofrenie, tedy lépe řečeno fázi akutní psychózy (Vollenweider & Geyer 2001). V dnešní době je tato podobnost popsána několika teoretickými koncepty na neurobiologické úrovni. Na dysfunkci serotoninového systému, primárního cíle psychedelik, je postavena dosud aktuální serotoninová hypotéza schizofrenie. Ovlivněním serotoninových receptorů dochází k narušení normální funkce kortiko-striato-thalamo-kortikálních (CSTC) okruhů, odpovědných za zpracování a integraci senzorických informací. Důležitou roli zde hraje thalamus, tzv. „brána vědomí“, který je filtrem pro aferentní senzorické informace. Při jeho narušené funkci jak v akutní fázi psychózy, tak ve stavu intoxikace psychedeliky dochází k zahlcení mozkové kůry informacemi a následným chybám v jejich zpracování. V dnešní době jsme schopni tyto změny pozorovat pomocí neurovizuálních a elektrofyziologických metod. Narušené zpracování informací se odráží ve změnách funkční konektivity mozkové kůry (tzv. diskonekční teorie schizofrenie (Friston & Frith 1995)) a zvýšené aktivitě thalamu a prefrontální kůry (Vollenweider et al. 1997).

V současnosti pro schizofrenii existuje výhradně symptomatická léčba. Vývoj animálních modelů může přispět k nalezení kauzální léčby, vývoji nových antipsychotik a vysvětlení etiopatogeneze schizofrenie. Ačkoliv je schizofrenie typicky lidské onemocnění, existují paralely mezi některými měřitelnými behaviorálními a elektrofyziologickými parametry mezi

² LSD odstartovalo vědecký zájem o serotoninový systém, jehož ovlivnění je podstatou moderních antidepresiv. (SSRI, SNRI zvyšují dostupnost serotoninu na synapsi.

³ Např. na psychofarmakologii vůbec nejúčinnějšího moderního antipsychotika klopazinu se významnou měrou podílí 5HT_{2A} antagonismus.

⁴ nesouvislé, nespojité, nepřiléhavé, útržkovité, roztržité myšlení bez logického systému a řádu

⁵ ztráta vůle

⁶ ztráta schopnosti prožívat radost

psychopatologií pacientů se schizofrenií, lidskými dobrovolníky intoxikovanými psychedeliky a animálními modely s využitím halucinogenů (Quednow et al. 2009).

Tato práce bude zaměřena na změny ve funkčních vztazích a propojení kortikálních oblastí po aplikaci serotonergních halucinogenů. Změny budou sledovány pomocí spektrální a koherenční analýzy elektroencefalografických (EEG) kortikálních záznamů.

2. Literární přehled

2.1. Účinky psychedelických látek

Následující kapitola popisuje vliv psychedelických látek na člověka a laboratorního potkana a snaží se naznačit paralely v translačním přístupu k modelování psychózy. V příloze této práce lze najít také jejich rizika a potenciální terapeutické využití.

2.1.1. Účinky na člověka

2.1.1.1. Fyziologické účinky

Z fyziologického hlediska způsobují všechny serotonergní halucinogeny v lidském těle mírné sympatomimetické účinky. Dochází k signifikantnímu zvýšení krevního tlaku a tepové frekvence. EKG a tělesná teplota většinou zůstávají nepozměněny, ovlivňován je průměr zornice (Hasler et al. 2004; Hoch et al. 1952). V extrémně vysokých dávkách (řádově mnohem vyšších než užívatelských) či v kombinacích se synergicky působícími látkami (např. antidepresiva IMAO) mohou vyvolat tzv. serotoninový syndrom – třes, závratě, slabost, ospalost, zívání, parestézii, rozmazané vidění, nevolnost, zvracení, hypertermii, bolest hlavy až kóma (Hoch et al. 1952; Strassman 1984; Palenicek et al. 2016). V důsledku down-regulace agonizovaných receptorů (5-HT_{2A}) dochází k okamžitému budování tolerance a stejného efektu tak lze při stejné dávce dosáhnout až po delším časovém odstupu (v řádu dní). V případě kombinování s jinými serotonergními halucinogeny dochází i ke vzájemné, tzv. křížové (cross) toleranci (Smith et al. 1999; Wolbach et al. 1962). Klasická psychedelika nejsou toxická, nezpůsobují poškození jakéhokoliv orgánu, ani nenavozují závislost (Nichols 2004).

2.1.1.2. Psychické účinky

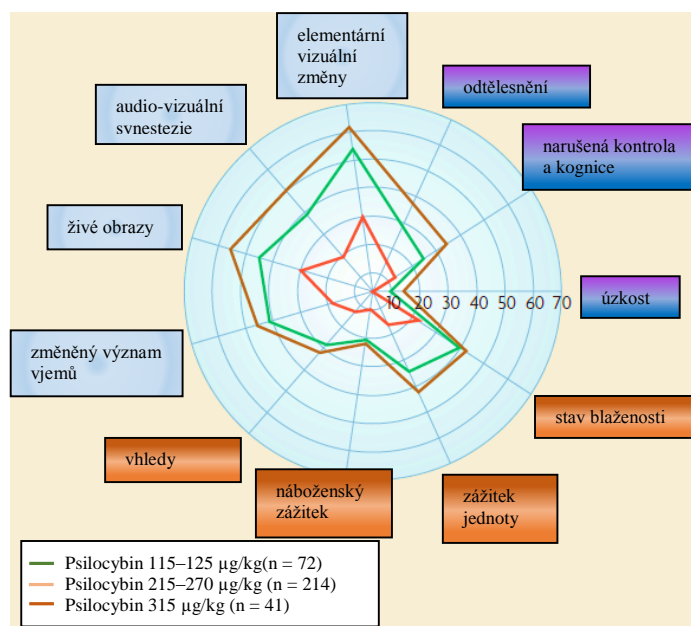
Charakter intoxikace psychedeliky závisí jak na farmakologických proměnných (dávka – intenzita a trvání), tak na nefarmakologických – okolní prostředí (setting) a aktuální rozpoložení dotyčného (set). Set v sobě zahrnuje vše, co si každý s sebou nese – strukturu osobnosti, momentální náladu, očekávání a zkušenosti. Setting představuje prostředí, v jakém se jedinec

zrovna nachází – okolí a jeho známost, počasí, denní dobu, počet zúčastněných a vztah s nimi. Tyto faktory lze u lidských dobrovolníků experimentálně kontrolovat (Griffiths et al. 2008).

Nízké (psychicky zaznamenatele) dávky způsobí vidění jasnějších barev, „šimrání“ v břiše, hudba může znít bohatší a živější. Po středních (spolehlivě psychoaktivních) dávkách se barvy a kontury stávají jasnými, běžné předměty upoutávají pozornost, okolí se začíná hýbat a „dýchat“ (pseudoiluze⁷). Za zavřenýma očima se zjevují dvoudimenzionální geometrické obrazce (pseudohalucinace⁷). Obvyklé jsou neuspořádané návaly myšlenek, zvýšení fantazie a imaginace, poruchy exekutivních funkcí a abstraktního myšlení. Po vyšších dávkách dochází k velice jasné změně zrakové percepce (pseudohalucinace/pseudoiluze), vše se hýbe, na stěnách a plochách jsou vidět kaleidoskopické a fraktální vzory. Člověk si může být vědomější vlastních orgánů, nebo jinak vnímat a cítit části těla (tzv. cenestetické somatické halucinace). Jedinec pod vlivem je citlivější na tváře, gesta a změny ve svém okolí. Za zavřenými víčky se zjevují vibrující, dýchající, barevné, mnohazměrné vzory, často s motivy krajin, budov, bytostí a vzpomínek. Nastává tzv. smyslová synestezie – je např. „vidět zvuk“ (zvukový podnět vyvolá zrakový vjem). Odhad času je silně narušený, jako může být narušena i jeho linearita – lze vnímat minulost, přítomnost i budoucnost v jednom okamžiku (distorze času). Jednoduché úkony jako například chůze, nebo řeč se stávají obtížnými díky narušení procedurální paměti. Při silných dávkách halucinace nabývají komplexnější charakter – předměty se slévají s ostatními předměty a promlouvají k člověku. Vnímání vnější reality je již značně narušeno, čas ztrácí význam, smyslové vjemy spolu splývají. Nastávají hluboké změny ve vnímání sebe sama (pojetí self), může se rozpustit hranice mezi vlastní osobou a okolním světem. Časté jsou introspektivní reflexe s hlubokými vhledy do sebe sama, do povahy lidstva, nebo vesmíru. Po extrémně vysokých dávkách dochází k celkové ztrátě smyslového spojení s okolním světem i vlastní identitou. Stav může vyústit v prožitek smrti (často spíše symbolická smrt ega) a znovuzrození doprovázený patřičnými pocity úzkosti a radosti. V některých případech je vyvrcholením mystická extáze, v níž se ve zdánlivě nekonečném okamžiku zdají být veškeré spory smířené, všechny otázky zodpovězené, všechny chťiče uspokojené či irelevantní a veškerá existence je zahrnuta v jediném prožitku, ve kterém se zdá být neomezená, věčná a nepopsatelná (Grinspoon & Bakalar 1983). Tento stav charakterizuje pojem „oceánská bezbřehost“.

⁷ pseudoiluze, pseudohalucinace – percepční změny, kterých si je postižený vědom (nepovažuje je za reálné) iluze – má reálný základ (zkreslení), halucinace – nemá reálný základ v okolním prostředí

Změněný stav vědomí pod vlivem psychedelických látek je možné popsat psychometricky škálou Altered States of Consciousness Rating Scale (ASCS), kterou vyvinul teprve v roce 1998 A. Dittrich. Sestává ze tří základních rozměrů označených jako: Oceánská bezbřehost (OSE) – pozitivně prožívaná ztráta vlastních hranic spojená se změněným vnímáním času, prostoru, sebe sama i celého vesmíru, extáze, štěstí, nadhled, spojení s kosmem, mystický stav; Rozpad ega (AIA) – negativně prožívaná ztráta ega spojená s nepříjemnými, úzkostnými pocity z narušeného myšlení, ztráty sebekontroly, často vzrušení a pocit nebezpečí; Vizuální restrukturalizace (VUS) – percepční změny – halucinace a synestezie (Dittrich 1998; Studerus et al. 2010). Vyhodnocení pro psilocybin viz obr. 2.1.



Obr. 2.1.: Zobrazení vybraných psychologických aspektů ze tří škál Dittrichova ASC dotazníku po podání psilocybinu lidským subjektům. Oceánská bezbřehost (OSE) – oranžově, Rozpad ega (AIA) – fialově, Vizuální restrukturalizace (VUS) – modře. Jak je patrné, intenzita navozených změn je závislá na dávce. (převzato z (Vollenweider & Kometer 2010), přeloženo, data z (Hasler et al. 2004)).

2.1.2. Účinky na potkana

Výše uvedené hodnotitelné psychické projevy jako rozpad ega nebo oceánská bezbřehost lze bez verbalizace u potkana jen stěží postihnout. Kromě toho se senzorické pojetí světa u potkana dle psychofyzických studií liší od toho lidského. Jeho nejlépe vyvinutým smyslem je čich a hmat, přičemž zrakem se řídí pouze orientačně (Crawley 2007). Další limitací je fakt, že prefrontální kortex, jakožto struktura u lidí zodpovědná za vykonávání nejvyšších kognitivních procesů, je u hlodavců obecně strukturou z celé kůry nejméně vyvinutou (Paxinos 2015).

Z těchto a dalších důvodů je tedy jasné, že kvalita prožívání psychedelického „tripu“ se u potkana značně liší od té lidské. Existují však behaviorální paradigmaty s předpokládanou translační validitou.

Ačkoliv nebylo prokázáno, zda potkani halucinují (a doposud neexistuje žádná validní evidence o tom, že i u potkanů tyto látky indukují obdobné percepční změny jako u lidí), dokáží účinky psychedelik dobře odlišit od jiných (ne)psychoaktivních substancí. Na této skutečnosti jsou založeny diskriminační studie operantního podmiňování: potkan je v takovém experimentu vytrénován ke zmáčknutí dané páčky při rozpoznání účinku psychedelika, zatímco v případě podání látky s jinými účinky (nebo žádnými) zmáčkne páčku druhou. Takto se dá studovat podobnost jednotlivých látek a jejich účinnost, účinek antagonistů, nebo stanovit ED₅₀ (tzv. efektivní dávka – výše dávky, kterou 50 % zvířat rozpozná jako účinnou). Diskriminační studií v roce 1971 bylo například zjištěno, že intraperitoneální dávka 0,1 μmol/kg LSD je ekvivalentní svou odpovědí 100 μmol/kg meskalinu a 9 μmol/kg psilocybinu, což znamená, že v molárním poměru je LSD 90krát účinnější než psilocybin a 900krát účinnější než meskalin. Zároveň to vypovídá o podobnosti účinků těchto látek (založeno na schopnosti generalizace odpovědi) (Schechter & Rosecrans 1972). Výsledky z podobných studií jsou shrnuty v tab. 2.1.

látka	K _i pro 5-HT _{2A}	K _i pro 5-HT _{2C}	ED ₅₀	relativní potence k LSD (účinná dávka pro potkany)	lidská dávka	relativní potence k LSD (účinná lidská dávka)
	nM		μM/kg		mg	
LSD	2-4	3-6	0,037	100	0,06-0,20	100
Psilocin	15-25	10	1,0	2,6	10-15	1
Meskalin	550	300	34	0,08	200-400	0,04
DOB	0,6	1,3	1,06	2,3	1-3	7

Tab. 2.1.: Srovnání lidských dávek vybraných psychedelik s jejich účinností určenou diskriminačními studiemi na potkanech. Převzato z (Nichols 2016).

Jak bude uvedeno dále, narušují psychedelika schopnost filtrovat relevantní smyslové podněty od těch za normálních okolností irelevantních a rušivých. Tento fenomén senzomotorického zpracování lze experimentálně hodnotit pomocí tzv. úlekové reakce prepulzní inhibice (PPI), kdy je před intenzivním (zpravidla zvukovým) neočekávaným stimulem prezentován slabý podnět (pre-stimulus), který za normálních okolností zvíře „varuje“ a utlumí odpověď na hlavní stimul. Narušení tohoto mechanismu je charakteristické jak pro potkany a lidi intoxikované psychedeliky, tak pro schizofrenní pacienty (Krebs-Thomson et al. 1998; Sipes & Geyer 1994; Swerdlow & Geyer 1998; Ouagazzal et al. 2001). Deficit PPI vyvolaný psychedeliky lze normalizovat antagonismem 5-HT_{2A} receptorů

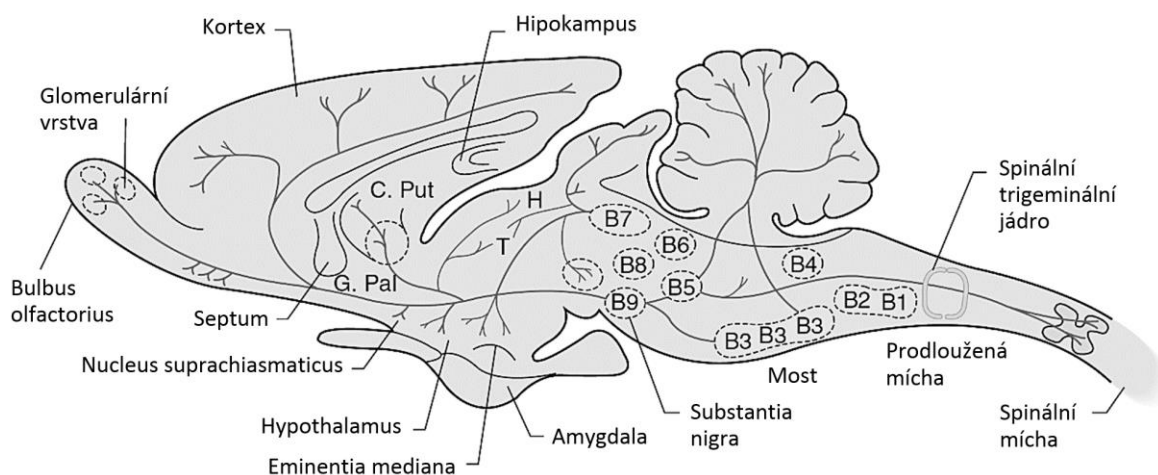
(Halberstadt & Geyer 2011). Narušená percepce a odhad času je často reportována po intoxikaci psychedeliky. Tato skutečnost byla experimentálně prokázána u lidí (Wittmann et al. 2007) a je s použitím behaviorálních intervalových a časově diskriminačních testů prokazatelná i u potkanů. I v tomto případě lze deficit normalizovat 5-HT_{2A} antagonisty (Body et al. 2003). Serotonergní halucinogeny vyvolávají u potkanů v testu otevřeného pole dezorganizaci explorativního chování a jeho typických figur. Dochází k narušení lokomoce, dezorganizaci pohybu v čase a prostoru, úbytku exploračních aktivit i habituace a výskytu stereotypií (Geyer 1998). Psychedelika obvykle působí na potkany hypolokomočně, byl však pozorován bifázický účinek času i dávky. Páleníček a kol. zjistili, že LSD, psilocin i meskalin na počátku účinku lokomoci zkracují, zatímco po delším čase se rozvíjí hyperlokomoce (nepublikovaná data). Podobně nízké dávky meskalinu působily hypolokomočně, vysoké naopak hyperlokomoce (Páleníček et al. 2008). Pozorované snížení explorativního chování a čas setrvávání v centru arény vypovídá o úzkostném chování (Silva & Calil 1975). Anxietu lze prokázat i dalšími behaviorálními testy, např. vyvýšeným křížovým bludištěm (elevated plus maze) (Nic Dhonnchadha et al. 2003). Tyto projevy (dezorganizace chování, úzkost, stereotypie aj.) se považují za modely pozitivních příznaků psychóz. Podání psychedelik také vyvolává typické prvky chování, jako např. tzv.: head twitch response (HTR) – trhavé pohyby hlavou, wet dog shake – „oklepání se jako mokrý pes“, backward walking – chození pozadu, flat body posture – zploštění těla, nebo lower limb retraction – natahování zadních končetin (Schreiber et al. 1995; Kleven et al. 1997; Páleníček et al. 2008). Toto chování je zároveň behaviorálním projevem serotoninového syndromu (Palenicek et al. 2016). HTR je specifický pouze pro psychoaktivní agonisty 5-HT_{2A} receptorů a má vysokou prediktivní validitu psychedelického potenciálu látky. Nepsychoaktivní agonisté, jako např. lisurid tuto odpověď nespouštějí a projev je, stejně jako v předchozích případech, blokovatelný 5-HT_{2A} antagonisty (Vollenweider et al. 1998). Psilocybinová dávka 10 mg/kg má mírné sympatomimetické (piloerectce, hyperventilace, mydriáza) a ataktické účinky (Passie et al. 2002).

2.2. Neurobiologie působení

2.2.1. Molekulární úroveň

Serotonin je velmi starou signální molekulou, která hraje roli již v jednobuněčných organismech. V důsledku takového evolučního vývoje má i u vyšších organismů významnou funkci: moduluje vývoj, kardiovaskulární, gastrointestinální a endokrinní funkce, smyslové vnímání, chování jako je agrese, chuť k jídlu, sex, spánek, nálada, kognice a paměť. Většina serotoninu se u savců nachází v gastrointestinálním traktu jako součást enterického nervového

systému (produkován enterochromafinními buňkami) a v delta granulech krevních destiček, kde se podílí na kontrakci hladké svaloviny, agregaci krevních destiček a regulaci permeability kapilár. Teprve později bylo zjištěno, že se nachází i v centrálním nervovém systému, kde je produkován specializovaným seskupením buněk – tzv. rafeálními jádry, nacházejících se v retikulární formaci mozkového kmene, viz obr 2.2. (Siegel et al. 2006), odkud jejich projekce zasahují do všech oblastí mozku, které tak zásobí serotoninem.

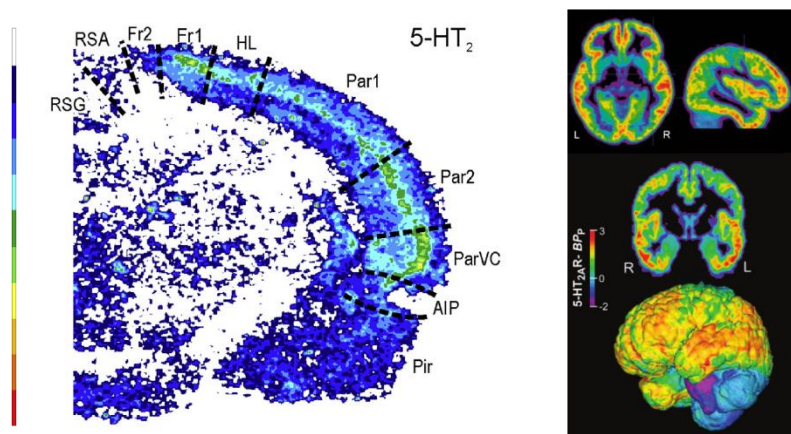


Obr. 2.2.: Schématický náčrt znázorňující umístění serotonergních rafeálních jader (B1-B9) a jejich projekcí v sagitálním řezu potkaního mozku; C. Put, nucleus caudate-putamen; G. Pal., globus pallidus; T, thalamus; H, habenula; převzato z (Siegel et al. 2006), přeloženo.

Klasická psychedelika působí v mozku agonismem serotoninových receptorů, a to především 5-HT_{2A}, ale i 5-HT_{1A} a 5-HT_{2C}. Tato skutečnost byla prokázána v roce 1983 diskriminační studií s potkany prokazující, že vysoce afinitní selektivní antagonisté 5-HT₂ receptorů pirenperon a ketanserin blokují diskriminační schopnosti pro DOM a LSD (Glennon et al. 1983). Dalšími (afinitními (Vollenweider et al. 1998), 5-HT_{2A} KO myši (González-Maeso et al. 2003)) studiemi pak bylo prokázáno, že klíčovým receptorem pro pozorované psychoaktivní účinky je právě 5-HT_{2A} receptor, ke kterému mají zároveň všechny serotonergní halucinogeny dostatečnou afinitu (Ray 2010).

5-HT_{2A} receptor se v CNS nachází zpravidla postsynapticky a to v bazálních gangliích, klastru, nespecifických jádrech thalamu a především kortexu. V kůře se nachází jak na GABAergních interneuronech (především košíčkové (basket) a lustrové (chandelier) buňky), tak na glutamatergních pyramidových neuronech zejména ve III. a V. vrstvě (Hoyer et al. 2002; Jakab & Goldman-Rakic 1998)(viz též obr. 2.5.). Téměř všechny prefrontální pyramidové

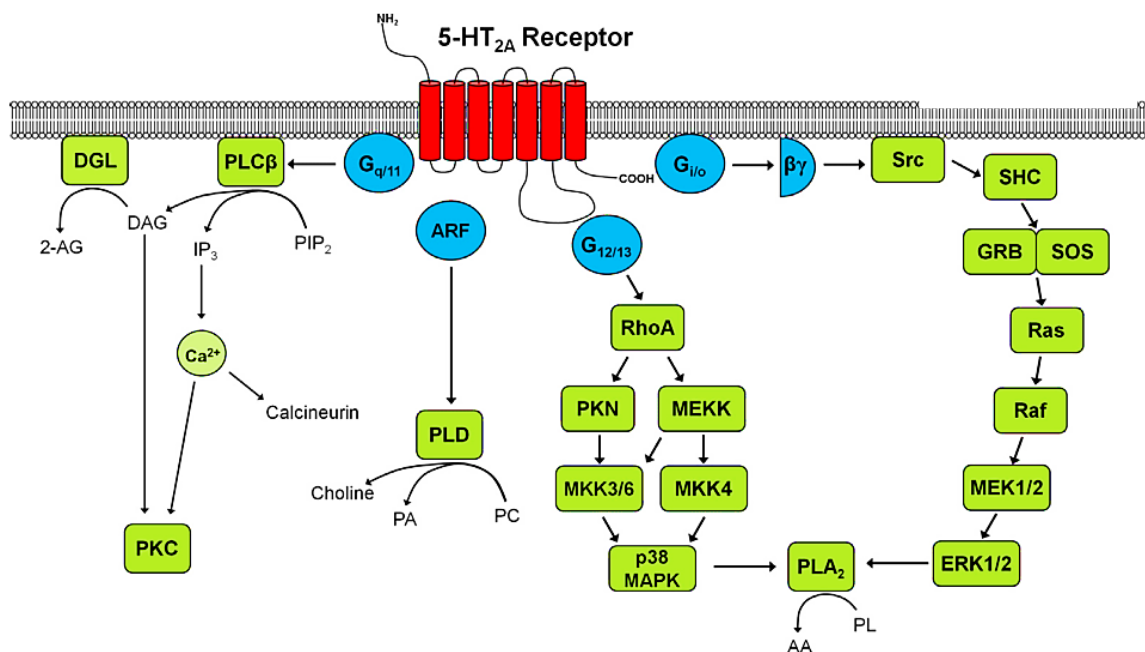
neurony potkana exprimují 5-HT_{2A} i 5-HT_{1A} receptory lokalizované hlavně na proximálních apikálních dendritech (Santana et al. 2004). Vysoká úroveň exprese 5-HT_{2A} receptorů v celé kůře naznačuje jejich možnou roli ve vyšších kognitivních a integračních funkcích. (Siegel et al. 2006).



Obr. 2.3.: Distribuce 5-HT_{2A} receptorů v potkaním (-2,64 mm od bregmy) (Paxinos 2015) a lidském mozku (Hurlemann et al. 2008; Hurlemann et al. 2009). Distribuce převažuje v mozkové kůře.

5-HT_{2A} receptor je receptor se sedmi transmembránovými doménami spřažený s G proteinovou signalizací (viz Obr. 1.). G proteinová transdukce ovšem není jednoznačná a její charakter záleží na elektrostatických interakcích ligandu a receptoru. Právě těmito parametry je připisován rozdílný efekt jednotlivých ligandů (Seifert 2013). S 5-HT_{2A} receptorem je typicky spojována dráha G_{αq} signalizace vedoucí k aktivaci fosfolipázy C (PLC). PLC hydrolyzuje membránový fosfatidylinositolbisfosfát (PIP-2) na inositoltrifosfát (IP3) a diacylglycerol (DAG). IP3 se váže na receptor endoplazmatického retikula a mobilizuje intracelulární zásoby Ca²⁺, které dále amplifikují signál např. přes kalmodulin a proteinkinázu C. Ačkoliv se dráha PLC považuje pro 5-HT_{2A} receptor za charakteristickou, bylo prokázáno, že není pro psychoaktivní účinky dostatečná a je známa řada dalších aktivovaných signalizačních kaskád (viz obr. 2.4.). Soudí se, že aktivace fosfolipázy A₂ (PLA₂), hydrolyzující arachidonovou kyselinu, má více co dočinění s psychedelickými účinky, nicméně, nebyla v tomto ohledu ještě dostatečně prozkoumána (Kurrasch-Orbaugh et al. 2003).

5-HT_{1A} receptory jsou receptory inhibiční, spojené s G_{ai} signalizací vedoucí k inhibici adenylátcyklázy a často hyperpolarizaci otevřením draslíkových kanálů (Marinissen & Gutkind 2001). Nachází se mimo dorsálních a mediálních rafeálních jader také v hipokampu, laterálním septu a entorhinálním kortexu (Siegel et al. 2006).



Obr. 2.4.: Schéma signálních drah spojených s 5-HT_{2A} receptorem. Zkratky: AA, arachidonic acid (kys. arachidonová); 2-AG, 2-arachidonoylglycerol; ARF, ADP-ribosylační faktor-1; DAG, diacylglycerol; DGL, diacylglycerol lipáza; ERK1/2, extracelulárně regulovaná kináza 1 and 2; GRB, growth factor receptor-bound protein 2 (s růstovým receptorem spřažený protein); IP3, inositol-1,4,5-triphosphate (inositol trifosfát); p38 MAPK, p38 mitogenem aktivovaná protein kináza; MEK1/2, mitogenem/extracelulárním signálem regulovaná kináza 1 a 2; MKK3/6, MAPK kinázy 3 a 6; MKK4, MAPK kináza 4; MEKK, MAPK kinázy kináza; PA, phosphatidic acid (fosfatidová kys.); PC, phosphatidylcholine (fosfatidylcholin); PIP2, phosphatidylinositol-4,5,-bisphosphate (fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát); PKC, protein kináza C; PKN, protein kináza N; PL, phospholipids (fosfolipidy); PLC_β, phospholipase C_β (fosfolipáza C_β); PLD, phospholipase D (fosfolipáza D); SHC, Src homology 2 domain containing transforming factor (transformační faktor obsahující Src homologní doménu 2); SOS, son of sevenless homolog (homolog syna bezsedmého). Převzato z (Halberstadt 2014).

2.2.2. Buněčná úroveň

Na neuronální úrovni psychedelika působí především třemi základními mechanismy:

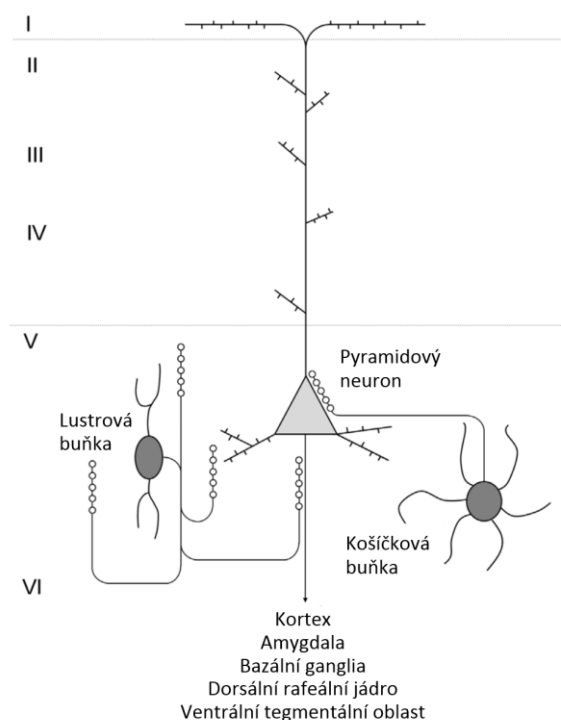
1. Rafeální jádra. Agonismem 5-HT_{1A} receptorů dochází k presynaptické inhibici buněk rafeálních jader, s pětkrát menší potencí jsou postsynapticky inhibovány i neurony k nim paralelní. Inhibice jader může v menší míře nastat i nepřímo stimulací GABAergních neuronů prostřednictvím 5-HT_{2A} receptorů. Potlačením činnosti těchto buněk, jakožto zásobáren serotoninu pro zbytek mozku, dochází k zásadnímu snížení výdeje serotoninu (Haigler & Aghajanian 1973; Trulson 1986; Liu et al. 2000).

2. Thalamus. Podstatná pro účinky halucinogenů je exprese 5-HT_{2A} receptorů v retikulárních a jiných nespecifických jádrech thalamu. Retikulární jádra svými GABAergními vstupy do

všech ostatních jader thalamu řídí a organizují jejich činnost. Tyto neurony se mohou nacházet v jednom ze dvou elektrofyziologických režimů: 1) v režimu tonické aktivity (charakteristický pro přenos senzorických informací) jsou buňky částečně depolarizovány a na aferentní stimuly odpovídají vysláním jednotlivých AP, 2) v režimu fázické aktivity, kdy jsou hyperpolarizovány a odpovídají salvy AP. Inhibiční vstupy z retikulárních jader thalamu hyperpolarizují thalamické přenosové buňky a mohou přepnout jejich režim odpovědi na fázický, čímž jim zabraňují v dosažení prahu pro vznik AP v odpovědi na přicházející smyslové aferentace. K tomu může pravděpodobně docházet po ovlivnění psychedeliky (McCormick & Feese 1990; Steriade & Amzica 1996; Wallenstein 1994; Nichols 2004).

3. Mozková kůra. V mozkové kůře prostřednictvím 5-HT_{2A} receptorů dochází k ovlivnění jak inhibičních GABAergních, tak glutamatergních excitačních neuronů a potencován je tak nadměrný vznik excitačních i inhibičních postsynaptických potenciálů (EPSPs, IPSPs; především v V. vrstvě, viz obr. 2.5.). Tento účinek je nejvýraznější pro mediální prefrontální kortex (mPFC) (Aghajanian & Marek 1996). Aktivace 5-HT_{2A} receptorů tedy vede ke zvýšení jak excitační, tak inhibiční neurotransmise v mozkové kůře. Očekávané zvýšené extracelulární množství glutamátu i GABA bylo prokázáno mikrodialyzačními experimenty (Muschamp et al. 2004; Abi-saab et al. 1999). Tento zdánlivě ambivalentní účinek narušuje kortikální zpracování příchozích informací a dochází k výraznému snížení poměru signálu k šumu.

Obr. 2.5.: Distribuce 5-HT_{2A} receptorů (kolečka) na jednotlivých neuronech v V. vrstvě prefrontálního kortexu. 5-HT_{2A} receptory jsou exprimovány glutamatergními pyramidovými neurony a GABAergními košičkovými a lustrovými buňkami. Psychedelika zvyšují frekvenci spontánních EPSPs a IPSPs v V. vrstvě potencováním glutamatergní i GABAergní aktivity. Převzato z (Halberstadt 2014).

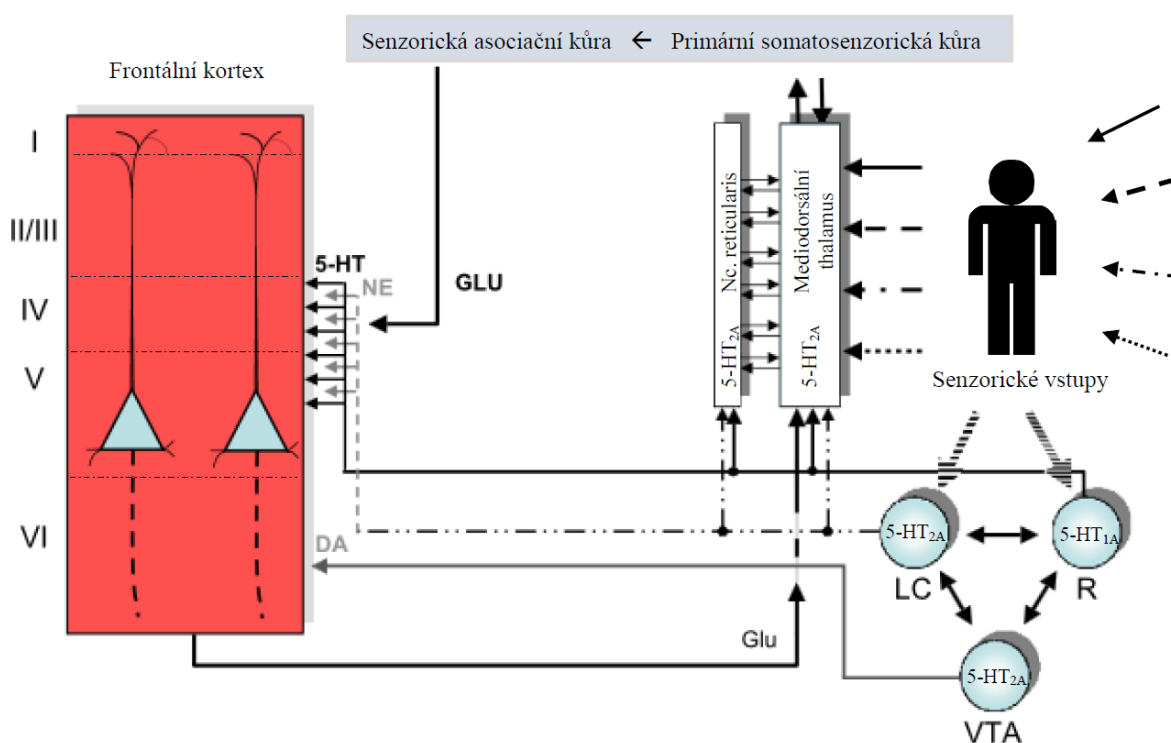


2.2.3. Úroveň struktur mozku, zobrazovací studie

Funkční zobrazovací studie PET (Pozitronová Emisní Tomografie) na lidech ukazují, že psilocybin výrazně aktivuje oblasti prefrontálního kortexu (PFC), anteriorního cingula a insuly, o něco méně parietální kůru a thalamus. Naopak, úbytek aktivity byl pozorován v oblastech striata, okcipitálního kortexu a zrakové dráhy. Tato hyperfrontalita a divergentní prefronto-subkortikální aktivita je připisována narušení thalamické schopnosti filtrování senzorických informací (Gouzoulis-Mayfrank et al. 1999). Thalamus je zásadní součástí kortiko-striato-thalamo-kortikálních (CSTC) zpětnovazebných okruhů, podílejících se na všech kognitivních procesech, filtruje senzorické informace jdoucí do kůry a chrání ji tak před procesním přetížením (Steriade 1997). Thalamické filtrování je pod kontrolou kortiko-striálních drah projektujících do dorsomediálních a retikulárních jader thalamu a pod modulačním vlivem serotonergních a dopaminergních projekcí vycházejících z rafeálních jader a oblasti ventrálního tegmenta (viz obr. 2.6.). Přehlcení procesní kapacity kortexu senzorickými informacemi je nejspíš zodpovědné za pozorované psychické projevy a to jak v intoxikaci těmito látkami, tak v akutní fázi psychózy (Vollenweider & Geyer 2001; Liu et al. 2000). Hyperaktivita thalamu je nález pozorovaný u lidí trpících schizofrenií (Goldman-Rakic & Selemon 1997). Mimo přetížení thalamu by také mohlo docházet k narušení integrace CSTC aktivity. Tento návrh vychází z hypotézy, že klíčovým mechanismem stojícím za integrací vědomé zkušenosti jsou zpětnovazebné interakce mezi posteriorními thalamo-kortikálními oblastmi zprostředkovávajícími percepční kategorizaci vjemů a oblastmi anteriorními, souvisejícími s formováním vnitřních konceptů mentálních reprezentací a plánováním (Edelman 2003).

Různé oblasti mozku jsou organizovány do funkčních propojení – sítí zpracovávajících senzorické, motorické i kognitivní informace. Vzhledem ke vzdálenostem propojených oblastí jsou nazývány sítěmi velkého měřítka (large-scale brain networks) (Biswal et al. 2010). Identifikovány byly tři základní anatomicky i funkčně definované sítě: síť defaultního režimu (default mode network, DMN), salientní síť (salience network, SN) a centrální exekutivní síť (central executive network, CEN). DMN, síť, která je aktivní v klidovém stavu (tj. neřeší-li se žádná kognitivní úloha), zahrnuje ventromediální prefrontální kortex, posteriorní cingulární kortex (PCC), inferiorní parietální kortex a střední spánkový lalok. Je zapojena do zpracovávání informací „o sobě“ (vnitřně orientované procesy) (Buckner et al. 2008). Existence DMN byla prokázána i u potkanů (Lu et al. 2012; Sierakowiak et al. 2015). CEN sestává z dorsolaterálního prefrontálního kortexu a posteriorního parietálního kortexu a zajišťuje externě orientované procesy jako dosažení cíle a vykonávání úloh (Fox & Raichle 2007). SN se skládá

z anteriorního insulárního kortexu a dorsálního anteriorního cingulárního kortexu. Podílí se na udržování pozornosti a zhodnocování významu příchozích podnětů. Kromě toho moduluje interakci mezi vnitřně orientovanou DMN a externě orientovanou CEN (SN aktivuje obě sítě recipročně), zajišťující tak vzájemnou součinnost na základě aktuálního kontextu. (Uddin 2010; Seeley et al. 2007). V roce 2011 bylo navrženo, že dezorganizace v těchto funkčních sítích může být společným rysem tak komplexních projevů psychiatrických poruch, jako je schizofrenie (Menon 2011). Zajímavé je, že aktivace DMN a CEN je v patologických stavech jako akutní psychóza či intoxikace psychedeliky naopak současná (Nekovářová et al. 2014).



Obr. 2.6.: Jednoduché schéma možných interakcí mezi oblastmi mozku ovlivněných agonistickým působením psychedelik na 5-HT_{2A} receptory. V PFC, 5-HT_{2A} receptory jsou lokalizovány v proximální části (vrstva III a V) apikálních dendritů a dendritických trnů pyramidových buněk. R (*raphe nucleus*) vysílá serotoninové projekce do všech struktur předního mozku, včetně frontální kůry. Psychedelika snižují aktivitu rafeálních buněk buď přímo stimulací 5-HT_{1A} receptorů, nebo nepřímo 5-HT_{2A} receptorovou aktivací inhibičních GABA interneuronů. Snižování aktivity rafeálních buněk vede k narušení normálního serotonergního tonu, který zahrnuje pokles aktivity inhibičních 5-HT_{1A} receptorů na kortikálních pyramidálních axonech a kortex se stává citlivějším pro inhibiční ovlivnění. Všechny příchozí senzorycké informace procházejí thalamem, s modulací retikulárních jader, které obsahují aferentní vlákna specifických jader a asociačních korových oblastí. Mnoho jader thalamu, jakož i retikulární jádra, exprimují 5-HT_{2A} receptory. Změny v režimu aktivity thalamických neuronů jsou spojeny s dramatickými změnami v neuronálních odpovědích na periferní podněty a dochází k nárůstu senzitivity na vnější stimuly. Jak LC, tak VTA exprimují 5-HT_{2A} receptory a obsahují vstupy z rafeálních jader. LC vysílá noradrenergní projekce do thalamu i kůry. Převzato z (Vejmola 2014), původně (Nichols 2004).

V PET studii s orální dávkou 15–25 mg psilocybinu došlo ke zvýšení metabolismu v laterálním i mediálním PFC včetně anteriorního cingula (ACC), temporomediálního kortexu a bazálních ganglií (Gouzoulis-Mayfrank et al. 1999). Další studie potvrdila zvýšený metabolismus ve frontotemporálním kortexu, ACC a snížený v thalamu (Vollenweider et al. 1997). Psilocybin ve 2 mg intravenózní dávky snížil kortikální oscilační výkon ve všech frekvenčních pásmech v klidovém stavu měřeném magnetoencefalografií (MEG) s největšími úbytky v oblastech DMN (především PCC). Bylo navrženo, že desynchronizace v PCC a snížený výkon mohou být způsobeny zvýšenou excitabilitou pyramidových neuronů hlubokých vrstev díky jejich inhibičním zpětnovazebným propojením (Muthukumaraswamy et al. 2013). Pokles výkonu ve všech pásmech naznačuje celkový kolaps kortikální oscilační aktivity navrhovaný i Carhartem-Harrisem v roce 2012. V jeho fMRI studii s psilocybinem došlo ke sníženému průtoku krve (CBF, cerebral blood flow) a BOLD ⁸ signálu v thalamu, mPFC, anteriorním a posteriorním cingulárním kortexu a sníženo bylo také spojení mPFC s PCC. Účinky připsal rychle pálicím (fast-spiking) korovým interneuronům (Carhart-Harris et al. 2012). V recentní studii tým doktora Carharta-Harrise prokázal, že LSD v intravenózní dávce 75 µg snižuje integritu DMN, zvyšuje průtok krve ve vizuálním kortexu a zároveň v něm snižuje MEG výkon alfa oscilace. Výkon byl snížen ve všech pásmech v celém kortexu. Z těchto nálezů se tedy zdá, že psychedelika destabilizují a dezintegrují za normálního stavu ustanovené sítě mozku a zároveň snižují míru segregace mezi nimi (Carhart-harris et al. 2016). Podle Carharta-Harrise jsou změny v aktivitě mozku způsobené serotoerními halucinogeny spojené se zvýšenou entropií ⁹. Vychází z předpokladu, že tak komplexní systém jako je mozek, disponuje schopností samoorganizace činnosti svých elementárních jednotek, aby si zachoval dostatečnou dynamiku. To uskutečňuje udržováním rovnováhy mezi stavy „rigidního řádu“ a chaosem. Postuloval teorii „entropického mozku“, která rozlišuje kontinuum mozkových stavů na základě entropie s dvěma extrémy: 1) Stavy s vysokou entropií jsou nestabilní (např. akutní psychóza, psychedelický stav indukovaný halucinogeny, okamžiky vzhledu, snění v průběhu REM spánku, zážitky blízké smrti, aj.), 2) Stavy s nízkou entropií jsou hyperstabilní a charakterizuje je rigidní myšlení s nízkou kreativitou, tedy „novostí“ vidění světa. Jejich příkladem je sedace a hluboký NREM spánek, ale také patologické stavy jako deprese, obsese

⁸ BOLD (blood-oxygen-level dependent) je zobrazovací metoda funkční magnetické rezonance ukazující změnu poměru okysličené a neokysličené formy hemoglobinu v dané oblasti, neboli konzumaci kyslíku.

⁹ Entropie je bezrozměrná veličina pravděpodobnosti. Lze ji chápat jako míru neuspořádanosti, resp. neurčitosti systému, přičemž čím vyšší entropie, tím větší míra neuspořádanosti.

a závislosti. Ke zvýšení entropie by mohla přispívat diskonekce v centrálních mozkových sítích způsobená mj. psychedeliky (Carhart-Harris et al. 2014).

2.3. Základy EEG

EEG je standardní neinvazivní metodou funkčního vyšetření centrálního nervového systému. Z povrchu skalpu je elektrodami registrována elektrická aktivita mozku. Průchodem přes další tkáň a relativně málo vodivou lebku se amplituda signálu zeslabuje na úroveň desítek mikrovoltů. Vzhledem k tomu, že EEG signál vzniká jako důsledek prostorové a časové sumace potenciálů extrémně vysokého množství neuronů, nelze v něm odlišit jednotlivé akční potenciály tak jako např. u EMG. Typický průběh EEG má proto na první pohled chaotický charakter, ve kterém se ale vlny objevují s určitou periodicitou.

2.3.1. Základní principy EEG

Vzhledem k tomu, že neurony jsou vzrušitelné buňky a mezineuronová komunikace je elektro-chemické povahy, vzniká při jejich činnosti zaznamatelné elektromagnetické pole. Záznam jeho elektrické složky, elektroencefalogram – EEG, se v zásadě skládá ze součtu elektrické aktivity populací neuronů s příspěvkem gliových buněk. EEG je záznam registrace extracelulárních proudů, které jsou výsledkem prostorové a časové sumace excitačních a inhibičních postsynaptických potenciálů kortikálních neuronů. Závisí tudíž na cytoarchitektuře neuronálních populací, jejich konektivitě (včetně zpětnovazebných okruhů) a na geometrii jejich extracelulárních elektromagnetických polí (Freeman 1994). Charakter EEG závisí na rozsahu vzájemné souhry mezi aktivními neurony. Tato souhra je determinovaná synchronizací aferentních signálů a synaptickou organizací lokálních neuronálních okruhů. V případě, že určitá populace neuronů je vzájemně propojena silnou vazbou a sdílí ten samý typ vstupů (informací), může formovat makroskopický zdroj EEG signálu. Znakem takové populace je vzájemná lokální konektivita neuronů zpětnovazebnými okruhy, zahrnující řadu excitačních a inhibičních synapsí. Výskyt těchto zpětnovazebných okruhů spolu s vnitřními oscilačními vlastnostmi některých typů neuronů je zodpovědný za výskyt rytmických oscilačních vzorů (mozkových rytmy), tj. samotného EEG (Elul 1972). V závislosti na frekvenci dělíme tyto rytmy do několika pásem: **delta** = < 4,0 Hz; **theta** = 4–8 Hz; **alfa** = 8–12 Hz; **beta** = 12–30 Hz; **gama** = > 30 Hz.

2.3.2. Mechanismus oscilací

K porozumění způsobu geneze elektromagnetických signálů je potřeba zkoumat jak jsou shluky neuronů organizovány v prostoru a čase a jakými biofyzikální zákony se řídí vznik

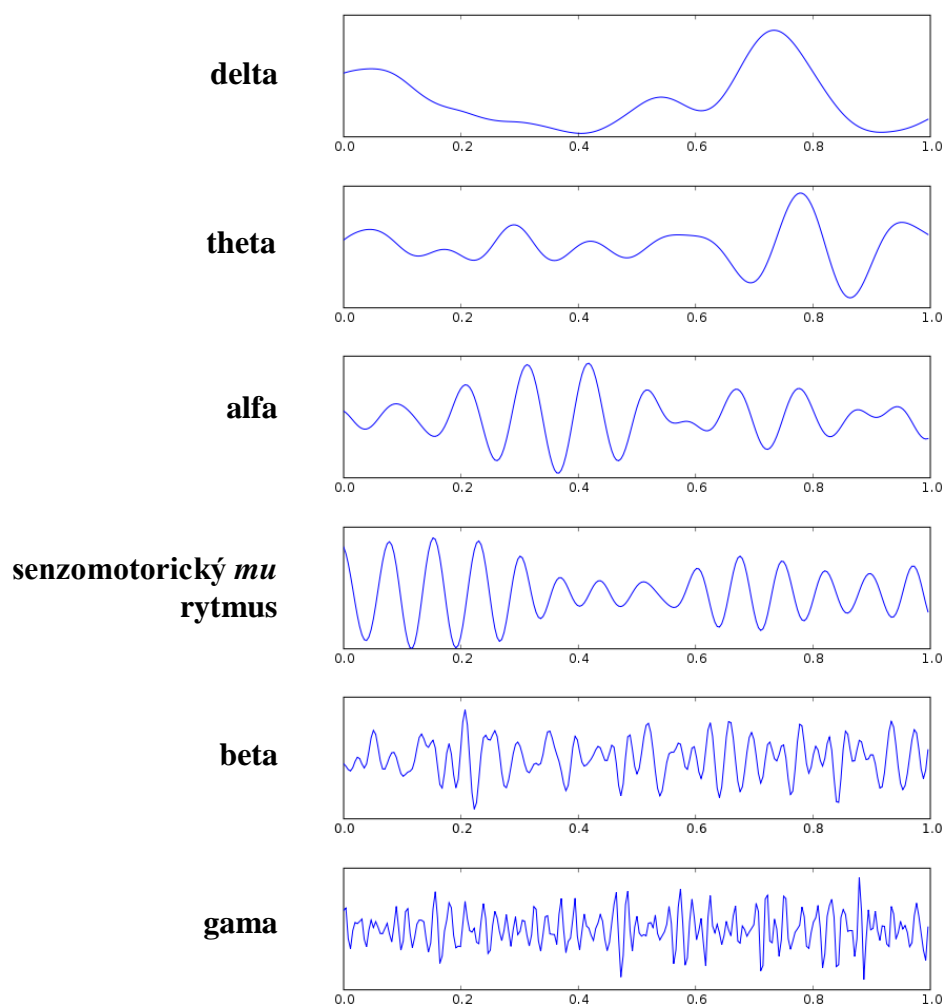
extracelulárních potenciálů. Obecně se předpokládá, že měřitelná elektromagnetická pole vznikají postsynaptickými iontovými proudy, které závisí na membránových procesech a jejich vodivosti. V případě EPSP je transmembránový proud nesený kladnými ionty směřujícími do buňky, u IPSP je negativní proud způsobený pohybem záporných iontů dovnitř buňky, nebo kladných ven. V makroskopickém měřítku je aktivace paralelně uspořádaných neuronů (tzv. palisád) schopna tvorby synchronních dipólových vrstev. Takovými neurony jsou především pyramidové buňky III. a V. vrstvy kortexu. Výsledná elektrická pole mohou být značně velká, když aktivita populace buněk vytvoří koherentní celek, tzn. je fázická. Elektrické potenciály generované populací buněk reprezentují časoprostorový průměr potenciálů jednotlivých neuronů v daném sloupci (Lopes da Silva 2015).

Nejsnáze lze za zdroje EEG uvažovat proudové dipóly. Neuronová síť pracuje synchronně díky vzájemnému propojení a interakcím. V kortexu se vytváří lokální okruhy díky geometrickému uspořádání kortikálních sloupců. Takový sloupec je vertikální válec o průměru 200–300 μm . Existuje několik typů spojení mezi nimi: excitační axonové kolaterály rozložené ve vzdálenostech do 3 mm; ramifikace přicházejících terminálových axonů, které se mohou rozšiřovat do 6–8 mm po korovém povrchu; inhibiční kolaterály interneuronů, které se větví horizontálně po 0,5–1 mm. Právě tato propojení určují charakteristickou funkci intrakortikálních propojení. Dynamika (časově závislé vlastnosti) elektromagnetických polí je dána dynamikou iontových proudů. Nejzákladnějším prvkem iontových proudů je pasivní časová konstanta membrány, ta je typicky 5 ms pro pyramidový korový neuron. Změna postsynaptického potenciálu se přenáší s touto časovou konstantou. Nicméně, existují další membránové jevy se značně delšími konstantami, umožňující různé režimy činnosti. To je případ např. GABA_B inhibice prostředkované K⁺ proudem – jeden transmitter může vyvolat jak rychlou, tak pomalou odpověď v závislosti na aktivovaném receptoru (ionotropní/metabotropní). Vzhledem k těmto vlastnostem a obrovské škále napěťově řízených kanálů, které mohou aktivně přispívat k elektrickým vlastnostem, je nutno na neurony pohlížet jako na dynamický systém funkčních uzlů modulující a usměrňující tok informace (Elul 1972; Lopes da Silva 2009; Lopes da Silva 2015).

2.3.3. Základní rozdělení EEG pásem a jejich původ

Obecně se předpokládá, že výše frekvence odpovídá charakteru zpracovávané informace – vyšší frekvence odpovídají kognitivním procesům, pozornosti a zpracovávání aktuálního dění v okolí organismu, zatímco pomalé frekvence jsou evolučně starší a mají integrační, komplexnější charakter. Oscilace jsou hierarchicky organizovány, s pomalými oscilacemi výše

postavenými, což potvrzuje jejich roli v řízení „obecnějších a základnějších“ procesů mozku (Basar & Bullock 1991).



Obr. 2.7.: Typické frekvence EEG oscilací pro jednotlivá pásma, převzato z [i].

delta = 0–4,0 Hz

Je frekvenční pásmo o nejnižší frekvenci, jejíž vlny mají obvykle nejvyšší amplitudu. Za normálních okolností se vyskytuje u dospělého člověka ve stadiích hlubokého spánku (3.–4. stadium, tzv. SWS – slow wave sleep) a u dětí do jednoho roku života (Faber 2001). Předpokládá se, že specifický typ delta aktivity také souvisí s činností systému odměny a prefrontálním kortexem (Knyazev 2012). Existují minimálně dva zdroje delta aktivity, a to thalamický a kortikální. Thalamické oscilace jsou generovány souhrou dvou intracelulárních proudů thalamo-kortikálních neuronů: přechodný nízkoprahový vápníkový proud (I_t , hroty/spiky) a hyperpolarizací aktivovaný kationtový proud. Kortikální oscilace o frekvenci 1–2 Hz pravděpodobně vznikají sumací dlouhotrvajících hyperpolarizací vytvářených různými

draslíkovými proudy v pyramidových neuronech hlubokých vrstev (Steriade et al. 1993). Spánkové delta oscilace (stejně jako alfa vřetena) vznikají činností neuronů v thalamo-kortikálních zpětnovazebných okruzích. Opakují se s periodou 1–5 s v závislosti na stavu bdělosti a sestávají z dlouhotrvajících depolarizací odrážejících činnost lokálních korových GABAergních okruhů a dlouhotrvajících hyperpolarizací spouštěných vyčerpáním extracelulárních zásob vápníku dlouhotrvající depolarizací (Contreras & Steriade 1995). Bylo také prokázáno, že na delta aktivitě se podílí činnost gliových buněk (tzv. prostorovým puffrováním, spatial buffering) – řízením koncentrace extracelulárního draslíku mohou ovlivňovat rytmus oscilací (Amzica et al. 2002). Delta aktivita je dominantní u všech poikilothermních živočichů.

theta = 4–8 Hz

U lidí aktivita dominantní od jednoho roku do tří let věku, u dospělých např. při meditaci, relaxaci, podílí se na zpracování úkolů vyžadujících pracovní paměť (Raghavachari et al. 2006). U většiny živočišných druhů se vyskytuje především mezi 4–7,5 Hz. U hlodavců se vyskytuje „rhythmic slow activity“ (RSA), která sahá až do 12 Hz. Vzniká v hipokampu, parahipokampálním gyru a dalších částech septo-hipokampálních okruhů. Předpokládá se existence RSA pacemakerů v septální oblasti. Vzhledem k velikosti hipokampu v poměru k ostatním částem mozku potkana je RSA jeho nejpatrnější (nejzákladnější) aktivitou (Buzsáki 1996). Také u primátů se dá tato aktivita změřit v hipokampu. Frekvence theta aktivity je fázicky spřažena s frekvencí gama (tzv. theta-gama coupling), což vypovídá o jisté oscilační hierarchii (Lakatos et al. 2005). V případě hlodavců se této aktivitě přisuzuje souvislost mezi senzorickým zpracováním a řízením pohybů (Buzsáki 2002).

alfa = 8–12 Hz

Alfa aktivita je základní dominantní aktivitou zdravého lidského vyspělého bdělého mozku při zavřených očích a vyskytuje se s maximem v okcipitálních oblastech. Vyskytuje se většinou v rytmické, vřetenovité konfiguraci. Pravidelná alfa aktivita se u lidí začíná objevovat v období pátého až sedmého roku života a to především okcipitálně, kam v průběhu maturace migruje z frontálních oblastí. Ačkoliv se frekvence základní alfa aktivity bdělého mozku překrývá s frekvencí spánkových vřeten, dají se oba stavy odlišit jednak behaviorálním stavem, ve kterém se vyskytují, a také oblastí výskytu (Faber 2001). Alfa vlny jsou generovány dipólovými vrstvami soustředěnými v jakýchsi „epicentrech“ na úrovni těl a bazálních dendritů pyramidových neuronů IV. a V. vrstvy kůry. Systémem paralelních intrakortikálních spojení je alfa rytmus propagován napříč kortexem rychlostí asi 0,3 cm/s. U lidí jsou tato epicentra

nazývána jako tzv. „alphons“ a jsou koncentrována do vzdálenosti 2 cm okolo kalkarinní fisury. Spánková vřetena vznikají v retikulárních jádrech thalamu (Gennaro & Ferrara 2003). Kortiko-kortikální interakce hrají zásadní roli v ustavování alfa aktivity, nicméně, vliv thalamu (především pulvinaru) může být jasně zřetelný. Kromě alfa aktivity zrakové kůry existují ještě další. V SI somatosenzorické oblasti byl identifikován tzv. *mu* (rolandický) rytmus s asi o 2 Hz vyšší frekvencí než zrakový s pravidelným vřetenovitým cyklem. Odráží synchronní aktivitu somatomotorických neuronů v klidovém stavu. Mu aktivita je inhibována pohybem (typicky sevřením pěsti), stejně jako zraková aktivita otevřením očí. Podobná inhibice nastává i při pouhém pozorování pohybu, naznačující existenci zrcadlových neuronů v těchto oblastech (Oberman et al. 2007). Mimoto byl zaznamenán i tzv. *tau* rytmus typický pro sluchovou kůru, inhibovaný zvukovým podnětem. Všechny tyto aktivity jsou navzájem nezávislé a neexistuje mezi nimi signifikantní synchronicita (Niedermeyer 1997; Feshchenko et al. 2001).

Vysokofrekvenční aktivita – 12 + Hz

Má nelineární dynamiku a vzniká paralelní interakcí propojených neuronových populací (nemá epicentrum). Vysokofrekvenční neokortikální rytmy byly studovány zejména ve zrakovém a somatomotorickém kortexu. Objevují se při zaměřené pozornosti, soustředěnosti a stresu. Bylo navrženo, že hlavní rolí těchto oscilací je vytváření časoprostorových synchronizací napříč kůrou umožňujících v dané chvíli agregaci různých korových oblastí s cílem vytvořit globální koherentní vzory sloužící k integraci a vyššímu zpracování příchozích informací (von der Malsburg & Schneider 1986).

beta = 12–30 Hz

Objevuje se společně s alfa aktivitou dominantně u dospělého člověka, primárně při otevřených očích. Má symetrické rozložení a převahu frontálně, okcipitálním směrem se její frekvence zmenšuje. Beta úzce souvisí s motorickým chováním a je oslabena během aktivních pohybů. Beta s nízkou amplitudou s proměnlivou frekvencí je odrazem aktivního přemýšlení a koncentrace. Rytmičká beta se stálou frekvencí (~18 Hz) v podobě tzv. beta vřeten se vyskytuje u pacientů medikovaných benzodiazepiny (Faber 2001).

gama = 30–100 Hz

Gama aktivita je měřena především neokortikálně a v hipokampu. Je spojována s procesem vyššího zpracování senzorických informací (tzv. multisenzorické integrace) (Kanayama et al. 2007), vyššími kognitivními a exekutivními funkcemi a pracovní pamětí. Předpokládá se, že gama aktivita reprezentuje synchronizaci různých populací neuronů v rámci vykonávání náročnější kognitivní nebo motorické funkce. Ačkoliv byly nalezeny individuální neurony

vykazující vlastní aktivitu gama frekvence, bylo prokázáno, že gama oscilace vznikají činností sítí GABAergních interneuronů, konkrétně košíčkových (basket) a lustrových (chandelier) neuronů s rychlou aktivitou (tzv. parvalbumin pozitivní interneurony, PV+). Tyto neurony jsou zdroji perisomatické inhibice. Rozsáhlou sítí vzájemných inhibicí synchronizují oscilaci velkých a značně vzdálených souborů pyramidových neuronů, ve kterých činností GABA_A receptorů vznikají IPSPs. Přenos mezi PV+ GABAergními interneurony a pyramidovými neurony je narušen v průběhu akutní psychózy v důsledku dysfunkce NMDA receptorů a následnému hyperglutamátergnímu stavu, což vede k narušení gama oscilace 40 Hz (Lisman et al. 2008). Vzhledem k psychickým procesům spojovaných s gama aktivitou bylo provedeno několik studií v souvislosti s psychotickým onemocněním. Ačkoliv se ze zjištěných poznatků nedá učinit jednoznačný závěr, byla prokázána narušená regulace gama oscilací, která kvalitativně neodpovídala behaviorálním souvislostem (např. při řešení úkolu – činnosti, která normálně zvyšuje gama aktivitu, se u psychotických jedinců snižuje). Ve všech studiích však byla prokázána desynchronizace signálu (Sun et al. 2011).

2.3.4. Kvantitativní elektroencefalografie (QEEG)

Vznik QEEG se datuje do 50. let 20. století, kdy se objevila první generace poloautomatických frekvenčních analyzátorů. Mnohem rychlejší vývoj byl poté nastartován zavedením „rychlé Fourierovy transformace“ (Fast Fourier Transformation; FFT) (Cooley & Tukey 1965), matematického modelu pro analýzu výkonových spekter. Principem QEEG je vizuální selekce několika bezartefaktových úseků vícekanálového EEG (obvyčně 19 elektrod v standardním rozložení 10-20, nejmodernější přístroje ale mají až 256 elektrod), které jsou pak analyzovány pomocí rychlé Fourierovy transformace. Jejím výsledkem je odhad zastoupení různých frekvencí (tzv. power spectral density) napříč celým frekvenčním spektrem (tzv. výkonové spektrum = power spectrum). Výsledek z každé elektrody pak může být vyjádřen jako: **absolutní výkon** v každém pásmu (delta, theta, alfa, beta, gama), **relativní výkon** v každém pásmu (procento celkového výkonu v každém kanálu), **koherence** (míra synchronizace mezi dvěma kanály) nebo **symetrie** (poměr výkonu v každém pásmu mezi symetrickými páry elektrod z levé a pravé hemisféry), či dalšími měřitelnými parametry (kordance, phase lag, atd.) (Hughes & John 1999). Topografické rozložení hodnot získaných matematickou analýzou EEG lze pak pomocí interpolace graficky zobrazit ve 2D nebo 3D prostoru, tzv. brain mapping. Nejmodernější metody nám umožňují lokalizovat zdroje elektrické aktivity v kůře mozku člověka (metoda LORETA) (Pascual-Marqui et al. 1994). Zobrazení ve 3D prostoru je pak srovnatelné se záznamy z jiných zobrazovacích method (PET,

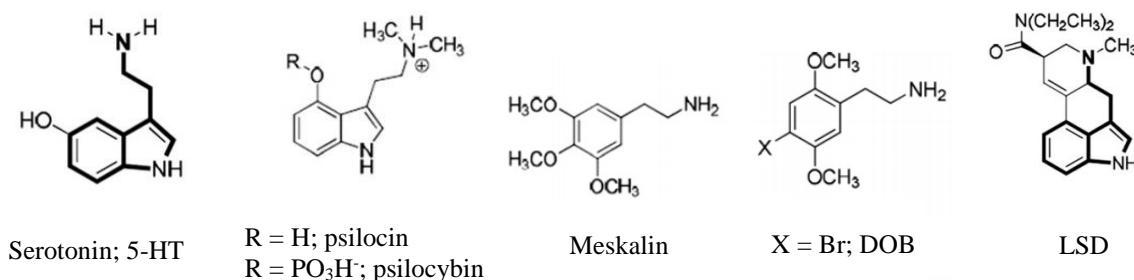
fMRI) s horším prostorovým rozlišením. Na rozdíl od jiných zobrazovacích metod však měří EEG mozkovou aktivitu přímo a má tak nesrovnatelně lepší časové rozlišení (v řádu ms).

2.3.5. EEG koherence

Udává míru podobnosti frekvenčních spekter mezi dvěma časovými úseky, tzn. míru synchronizace dvou snímaných signálů. Koherence je nezávislá na amplitudě a schopna tak odhalit změny, které spektrální analýza nezachytí. Spektrální výkon totiž odráží lokální konektivitu (amplitudu) – synchronizaci buněk na mikroskopické úrovni, zatímco koherence hodnotí dlouhé projekční dráhy mozku. Ty se rozdělují na interhemisferální – spojující obě hemisféry a intrahemisferální – spoje v rámci jedné hemisféry. Matematickým podkladem této metody je výpočet křížového výkonového spektra. Hodnota EEG koherence se pohybuje v intervalu 0–1 a informuje o míře podobnosti dvou EEG signálů (1 = absolutně identický signál; 0 = zcela neidentický signál). Koherence mezi dvěma elektrodami může být pozorována, dochází-li k funkčnímu spojení dvou procesů mezi těmito oblastmi, nebo ovlivňuje-li jeden proces simultánně obě oblasti zároveň. Umožňuje tak hodnotit míru konektivity mezi neuronálními populacemi a může být interpretována jako indikátor funkční konektivity různých oblastí mozku (Thatcher et al. 1986; Shaw & O'Connor 1978; Thatcher et al. 2004).

2.4. Stručný přehled vybraných serotonergních halucinogenů

Klasická psychedelika (serotonergní halucinogeny) jsou látky strukturně podobné serotoninu (5-hydroxytryptaminu, 5-HT; obr. 2.1.) a proto interagují v mozku s 5-HT receptory. Chemicky se dají rozdělit na indolaminy (sem patří tryptaminy a ergoliny) a fenylethylaminy. Všechny dále probírané látky byly použity v našich experimentech.



Obr. 2.1.: Chemické struktury serotoninu a vybraných psychedelik. Převzato z (Nichols 2016).

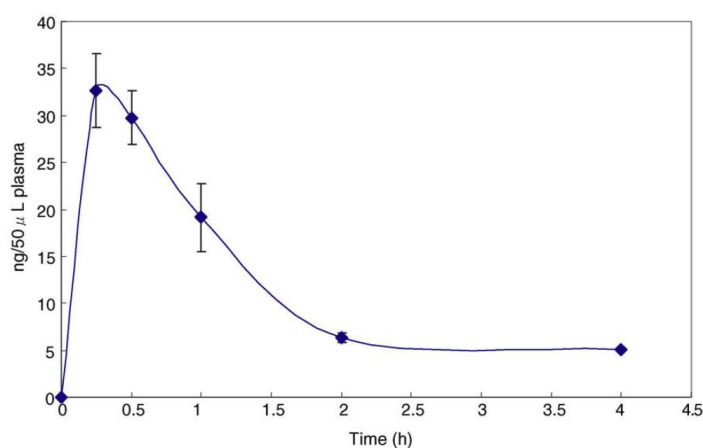
2.4.1. Indolaminy

2.4.1.1. Tryptaminy

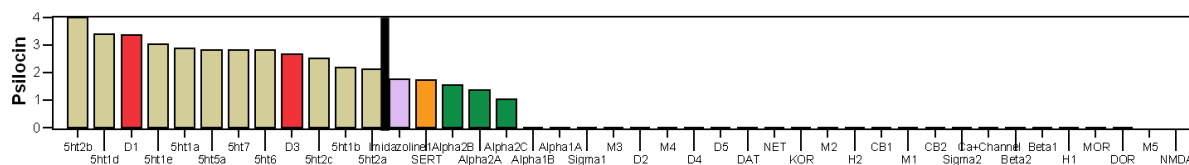
Jedná se o látky s indolovým jádrem, které se svou molekulární strukturou podobají serotoninu nejvíce ze všech psychedelik. Mezi tryptaminová psychedelika patří např. přírodní látky psilocybin, dimethyltryptamin (DMT), 5-methoxy-DMT (5-MeO-DMT; obsaženo i v jedu ropuchy *Bufo alvarius*), 5-methoxy-diisopropyltryptamin (5-MeO-DIPT), aj. (Shulgin 1997).

Psilocybin

Systematickým názvem O-fosforyl-4-hydroxy-N,N-dimethyltryptamin (obr. 2.1.), je obsažen v řadě halucinogenních hub (např. rody *Psilocybe*, *Copelandia*, *Panaeolus*, *Conocybe*). Psychoaktivně nepůsobí psilocybin sám o sobě, nýbrž jeho produkt, psilocin, který z psilocybinu vzniká až v zažívacím traktu jeho defosforylací. V lidském těle lze obě látky detekovat v plasmě 20–40 min po perorálním podání, přičemž maximální hodnoty je dosaženo kolem 90. minuty a detekovat ho lze ještě 6 hodin (Lindenblatt et al. 1998). Typická lidská orální dávka je $\pm 0,2$ mg/kg, psychické efekty se dostavují po 15 mg, účinek nastupuje během 20–40 min a trvá 4–6 h (Shulgin 1997). Časový průběh koncentrace psilocinu v plasmě potkana po intravenózním podání 5 mg/kg psilocybinu je vidět na obr. 2.2. Koncentrace dosáhla maxima 15 min po podání a poté rychle klesala. Jak je patrné z obr. 2.3., psilocin agonizuje široké spektrum serotoninových receptorů. Afinita psilocinu k 5-HT_{2A} receptoru byla stanovena na $K_i = 0,049 (\pm 0,01)$ μ M, k 5-HT_{1A} $K_i = 0,123 (\pm 0,02)$ μ M (Rickli et al. 2016).



Obr. 2.2.: Změna koncentrace psilocinu v plasmě potkana po jednorázovém intraperitoneálním podání 5 mg/kg psilocybinu (n=4). Převzato z (Saito et al. 2004).



Obr. 2.3.: Profily afinit lidských receptorů k psilocinu. Na vertikální ose vyneseny hodnoty normalizované pKi (npKi). Receptory jsou uspořádány dle jejich afinity k psilocinu, černá čára vyznačuje hranici perceptibility ¹⁰; převzato z (Ray 2010).

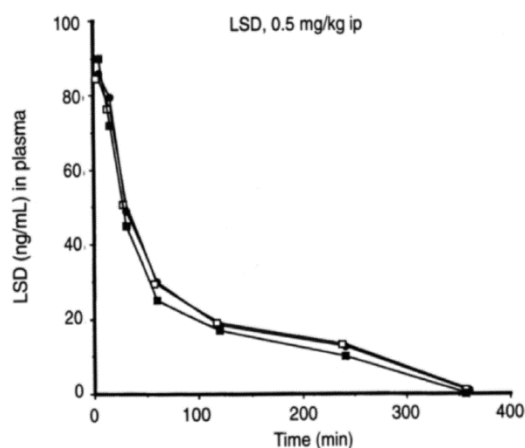
2.4.1.2. Ergolinové deriváty

Jsou reprezentovány především tartrátem N,N-diethylamidu kyseliny lysergové (LSD). S předchozími skupinami sdílí jak indolové jádro, tak jádro fenylethylaminové (viz obr. 2.1.). Dalším psychoaktivním ergolinem je například LSA (lysergamid) obsažený v Povijnici fialkové (*Ipomoea violacea*), nebo Havajské lesní růži (*Argyreia nervosa*). Samotná kyselina lysergová psychoaktivní není (Stafford 1997; Hoffer et al. 1967).

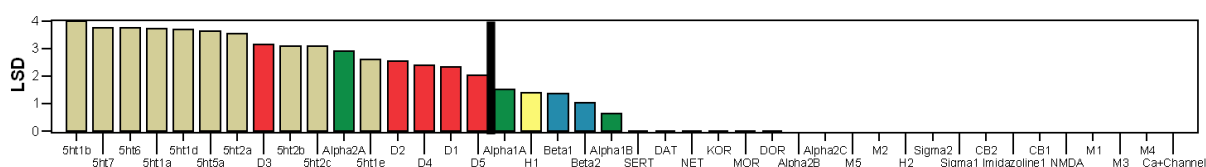
LSD

Systematickým názvem (6aR, 9R)-N, N-diethyl-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo-[4,3-fg]-chinolin-9-karboxamid je derivát kyseliny lysergové, která je produktem houby Paličkovice nachové (*Claviceps purpurea*), jenž parazituje na žitu a v menší míře na jiných druzích obilnin. Původem tedy jde o semisyntetickou sloučeninu. Primární způsob užití je orálně, ale může se do těla vstřebat kteroukoliv jinou cestou. Za běžné lidské dávky se považuje 50–200 µg. Účinky se dostavují během 30 minut, stav kulminuje po 1,5 h a trvá 8–12 hodin (Shulgin 1997). Časový průběh koncentrace LSD v plasmě potkana po jednorázovém intraperitoneálním podání 0,5 mg/kg je vidět na obr. 2.4. Koncentrace od maximálních hodnot rychle klesala až do 5. hodiny. Jak je patrné z obr. 2.5., LSD agonizuje velmi široké spektrum nejenom serotoninových receptorů, významná je také jeho afinita k dopamniernímu systému. Afinita LSD k 5-HT_{2A} receptoru byla stanovena na $K_i = 0,0042 (\pm 0,0013) \mu\text{M}$, k 5-HT_{1A} $K_i = 0,003 (\pm 0,0005) \mu\text{M}$ (Rickli et al. 2015).

¹⁰ Stanovená na hodnotu 2 pKi = 100 nM, hodnoty nad $K_i = 10000 \text{ nM}$ jsou pod rozlišovací schopností metody



Obr. 2.4.: Časový průběh koncentrace LSD v plasmě potkana po jednorázovém intraperitoneálním podání 0,5 mg/kg LSD. Převzato z (Nakahara et al. 1996).



Obr. 2.5.: Profily afinit lidských receptorů k LSD. Na vertikální ose vyneseny hodnoty normalizované pKi (npKi). Receptory jsou uspořádány dle jejich afinity k LSD, černá čára vyznačuje hranici perceptibility; převzato z (Ray 2010).

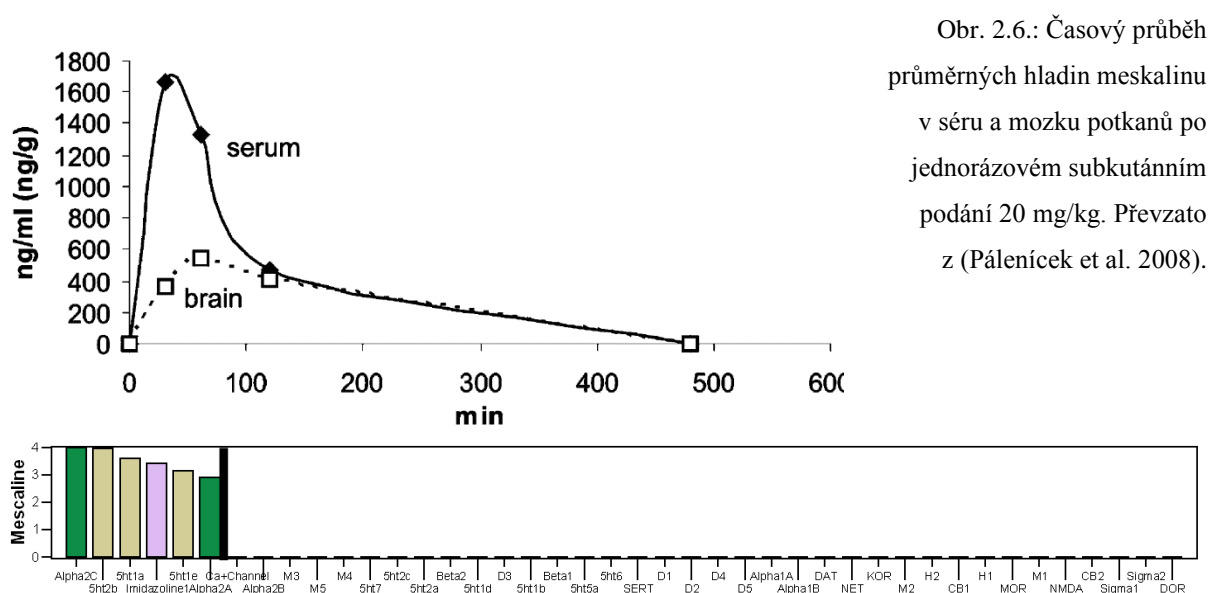
2.4.2. Fenylethylaminy

Jsou látky chemickou strukturou podobné stimulantům amfetaminu a metamfetaminu. Nejznámějším fenylethylaminovým psychedelikem je meskalin. Má relativně nízký psychoaktivní potenciál a již byla syntetizována řada výrazně účinnějších substituentů, jako je DOB (2,5-dimethoxy-4-bromoamfetamin), DOM (4-methyl-2,5-dimethoxyamfetamin), DOI (2,5-dimethoxy-4-iodo-amfetamin), 2C-B (4-bromo-2,5-dimethoxyfenethylamin), aj. (Hoffer et al. 1967; Shulgin 1991).

Meskalin

Systematickým názvem 2-(3,4,5-trimethoxyfenyl)ethanamin (obr. 1.), je alkaloid přirozeně se vyskytující v kaktusech zvaných Peyotl (*Lophophora williamsii*), San Pedro (*Echinopsis pachanoi*) a Peruánská pochodeň (*Echinopsis peruviana*), a také v množství dalších druhů rostlin rodu *Cactaceae*. Svůj domorodý původ má užívání těchto látek v Mexiku a jižních částech Severní Ameriky (Stafford 1997; El-Seedi et al. 2005). Nejčastěji se meskalin užívá orální cestou, halucinogenní účinky se dostavují s dávkou 5 mg/kg. Běžná lidská dávka je 200–400 mg. Vyskytuje se jako sulfátová nebo hydrochloridová sůl (Shulgin 1991). Nástup účinku u člověka je od 30 minut do 2 hodin a hladiny koncentrace v krvi dochází vrcholu

2 hodiny po požití. Doba trvání účinku se obvykle pohybuje v rozmezí 10–12 hodin (Mokrasch & Stevenson 1959). Po jednorázové subkutánní dávce 20 mg/kg potkanům dosáhla hladina koncentrace meskalinu v plazmě vrcholu ve 30. minutě a poté rychle klesala do 120. minuty. Koncentrace v mozku stoupala dvakrát pomaleji, s vrcholem v 60. minutě a pomalým ústupem, viz obr. 2.6. (Páleníček et al. 2008). Meskalin má ze všech vybraných látek nejnižší afinitu k oběma receptorům (obr. 2.7.). To může vysvětlovat jeho relativně nízkou potenci (Ray 2010). Afinita meskalinu k 5-HT_{2A} receptoru byla stanovena na $K_i = 6,3 (\pm 1,8) \mu\text{M}$, k 5-HT_{1A} $K_i = 4,6 (\pm 0,4)$ (Rickli et al. 2015).

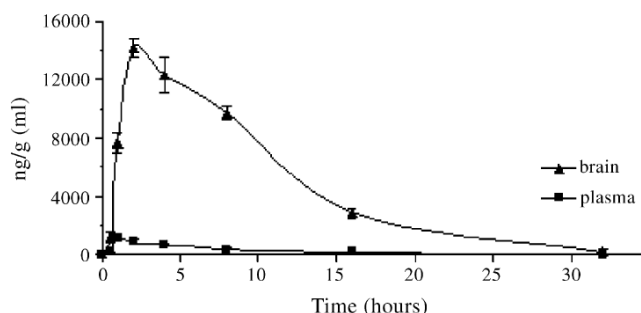


Obr. 2.7.: Profily afinit lidských receptorů k meskalinu. Na vertikální ose vyneseny hodnoty normalizované pK_i (npK_i). Receptory jsou uspořádány dle jejich afinity k meskalinu, černá čára vyznačuje hranici perceptibility; převzato z (Ray 2010).

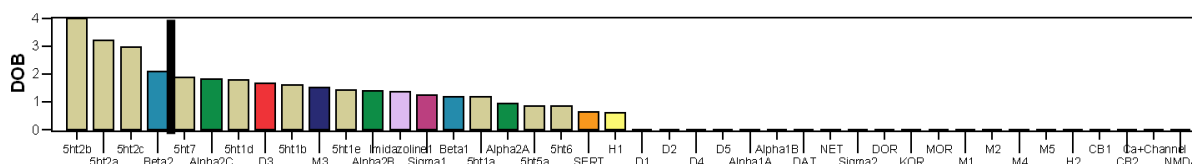
DOB

2,5-dimethoxy-4-bromoamfetamin je substituovaný amfetamin poprvé syntetizovaný roku 1967 Alexandrem Shulginem. Rekreačně tato droga bývá zneužívána zřídka pro svou nízkou letální dávku (byl zaznamenán případ úmrtí po požití 30 mg (Winek et al. 1981) a dlouhou dobu působení (18–30 hodin). Úmrtí v důsledku předávkování bylo zaznamenáno i v ČR (Balíková 2005). Běžně užívaná dávka je 1,0–3,0 mg. Jedná se o chirální látku, jejíž R-izomer je psychoaktivnější než racemická směs, v té se však vyskytuje nejčastěji. Smrtelná dávka pro myši je 125 mg/kg (Shulgin 1991). Časový průběh koncentrace DOB v plasmě a mozku potkana po jednorázovém subkutánním podání 20 mg/kg je vidět na obr. 2.8. Koncentrace dosáhla maxima v první hodině od podání a poté, ve srovnání s ostatními vybranými

halucinogeny, velmi pomalu klesala až do 30. hodiny. Afinita meskalinu k 5-HT_{2A} receptoru byla stanovena na $K_i = 0,0231 (\pm 0,007) \mu\text{M}$, k 5-HT_{1A} $K_i = 2,55 (\pm 0,2) \mu\text{M}$ (Ray 2010).



Obr. 2.8.: Časový průběh průměrných hladin DOB v plasmě (čtverečky) a mozku (trojúhelníky) potkanů po jednorázovém subkutánním podání 20 mg/kg. Převzato z (Beránková et al. 2007).



Obr. 2.9.: Profily afinit lidských receptorů k DOB. Na vertikální ose vyneseny hodnoty normalizované pK_i (npK_i). Receptory jsou uspořádány dle jejich afinity k DOB, černá čára vyznačuje hranici perceptibility; převzato z (Ray 2010).

2.5. EEG a psychedelika

2.5.1. Humánní EEG

Vůbec první záznam EEG byl pořízen a publikován Hansem Bergerem v roce 1929 pomocí strunného galvanometru (Berger 1929). První dohledatelná studie účinků psychedelických látek na EEG je z roku 1936 na pacientovi intoxikovaném meskalinem. Byla pozorována snížená amplituda záznamu všech frekvencí a zvýšená frekvence alfa aktivity v akutní fázi intoxikace (o 1–2,5 Hz). Byla ovšem narušena její rytmicita. Při doznívání účinku pak frekvence alfa výrazně poklesla (Chweitzer et al. 1936). Studie dalších let (především po aplikaci LSD) tyto nálezy jednoznačně potvrdily (Gastaut et al. 1953; Rinkel et al. 1952; Anderson & Rawnsley 1954). Změny v kvantitativním EEG po podání 1 $\mu\text{g/kg}$ LSD studované roku 1963 vynesly pokles průměrného výkonu o 23 % a variability o 40 % (Goldstein et al. 1963). Další studie kvantitativního EEG s LSD také potvrdily snížení celkového výkonu, ale zároveň nastalo zvýšení výskytu vysokých frekvencí (nad 12,5 Hz) a celková desynchronizace (Shagass 1966; Akpinar et al. 1972). V roce 1969 Max Fink klasifikoval psychoaktivní látky do několika tříd dle doposud získaných EEG nálezů. LSD, meskalin a psilocybin zařadil do kategorie IIB (spolu

s např. (met)amfetaminem, metylfenidátem (ritalin), fenmetrazinem aj.), charakteristické snížením celkového výkonu (Fink 1969). Již v roce 1973 byla popsána podobnost mezi úbytkem výkonu (amplitudy) u člověka a králíka (Goldstein & Stoltzfus 1973). První moderní studie z roku 1998 monitorovala EEG po užití ayahuasky (tradiční nápoj obsahující DMT a IMAO). V klidovém stavu při zavřených očích byl naměřen signifikantní nárůst výkonu frekvence 36-44 Hz. Výkon pásma delta a theta se mírně snížil (Don et al. 1998). Riba a kol. čtyři roky poté provedl obdobnou studii s nálezem celkového snížení absolutního výkonu ve všech frekvenčních pásmech pod všemi elektrodami, nejvýraznějším v thetě (Riba et al. 2002). Další ayahuasková studie provedená na pouhých dvou subjektech vynesla pokles absolutního výkonu téměř ve všech pásmech (kromě alfa 1, beta 3 a beta 4). Překvapivě došlo k výraznému zvýšení koherence okolo 40 Hz (Stuckey et al. 2005).

2.5.2. Animální EEG

První dohledatelná studie zkoumající změny EEG po podání psychedelik laboratorním potkanům byla provedena roku 1957. Meskalin v tomto případě vždy potencoval nárůst (podíl výskytu) rychlé aktivity. V extrémně vysokých dávkách (400 mg/kg) docházelo ke zvýšení rychlé aktivity okcipitálně a pomalé frontálně (Speck 1958). Ve stejném roce byly provedeny dvě studie s LSD na imobilizovaných kočkách. LSD v dávce 1 mg snižovalo amplitudu aktivity mediálních jader hypothalamu a thalamu a retikulární formace. Také evokovalo 50 Hz rytmus vysoké amplitudy v pallidu, putamen a amygdale. Kortikální aktivita byla zpomalena, desynchronizována a objevila se pravidelná vřetená (Vogt et al. 1957). V dávce 40 µg/kg převažovala rytmická vřetenovitá aktivita s frekvencí 4–7 Hz. V minimálních zaznamenaných dávkách 15-25 µg/kg byla pozorována „bdělostní“ aktivita o vysoké frekvenci 15–20 Hz (Bradley & Elkes 1957). Výše dávky korelovala s pozorovaným chováním – od zvýšené pozornosti v malých dávkách po téměř úplnou apatii a katatonii v dávkách extrémních. Ve studii s vnořenými elektrodami byla na kočkách v dávce 25–100 µg/kg LSD pozorována indukce vln epileptologického charakteru (tzv. SW komplex ¹¹) o frekvenci 4–5 Hz vznikajících v hipokampu a šířících se napříč subkortikálními oblastmi v klidovém stavu (Adey et al. 1962). Totožné dávky u koček vyvolaly v kortikálním EEG snížení amplitudy signálu a zvýšení jeho frekvence (Horovitz et al. 1965). První studie animálního kvantitativního EEG proběhla roku 1977 s DMT na myších v dávkách 20 a 40 mg/kg. Obě dávky měly téměř identické účinky. Bezprostředně po podání došlo ke zvýšení výkonu ve vysokých frekvencích ~30 Hz, které po 20-ti minutách ustoupilo a výkon zůstal zvýšen především v nízkých

¹¹ SW – spike wave (hrot vlna)

frekvencích. 15 minut po administraci se začaly objevovat vlny o frekvenci 3,5–4 Hz s vysokou amplitudou, které dominovaly po celý čas záznamu (Morley & Bradley 1977). Nahráváním lokálních potenciálů (LFPs – local field potentials) bylo u potkana po podání DOI prokázáno snížení amplitudy oscilací nízkých frekvencí (delta), a zvýšení vysokých gama oscilací (Celada et al. 2008). V obdobné studii byl zjištěn pokles výkonu gama oscilací a aktivity neuronů v celém PFC (Wood et al. 2012).

Souhrnně lze říci, že psychedelika narušují oscilační aktivitu kortikálních sítí a snižují pravděpodobnost, že jednotlivé pyramidové neurony budou pálit synchronně, vedou tedy k desynchronizaci lokální neuronální aktivity. Určitou výjimku tvoří v některých případech výkon ve vyšších frekvenčních pásmech. Většina animálních studií hodnotila pouze vybraný halucinogen, neexistuje doposud studie porovávající kvantitativní EEG po intoxikaci různými psychedeliky. Z doposud provedených studií není také jasné, jaký má vztah lokální desynchronizace k funkční konektivitě mozku experimentálních zvířat.

3. Cíle diplomové práce

V této práci jsme se zabývali kvantitativním EEG v animálním serotonergním modelu psychózy u laboratorního potkana. Cílem této práce je popsat změny v povrchovém kortikálním EEG po podání různých serotonergních halucinogenů – psilocin (tryptaminy), LSD (ergolinové deriváty), meskalin a DOB (fenylethylaminy). Výsledky této práce mohou přispět k hledání nových farmakologických cílů antipsychotické léčby.

4. Materiál a metody

4.1. Experimentální zvířata

Experimenty byly prováděny na dospělých samcích potkanů kmene Wistar (SPF; Velaz s.r.o., Konárovice, Česká republika). Použita byla zvířata o hmotnosti 280-300 g v době operace, s váhovým příbytkem na 300-350 g v době registrace. Pro jednotlivé experimenty byly použity skupiny zvířat o 12 jedincích. Potkani byli drženi po dvou ve standardních plastových chovných nádobách v klimatizovaném zvěřinci s regulovanou teplotou ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) i vlhkostí ($\pm 40\%$) s pravidelným dvanáctihodinovým cyklem světlo/tma. Přístup ke standardizované potravě i vodě byl ad libitum. Všichni potkani byli experimentálně naivní a testováni pouze jednou. Po prodělané operaci byla zvířata rozdělena individuálně (pro předejití ohryzu implantovaných elektrod) do nádob, kde pobývala až do dne registrace. Experimenty byly prováděny během světelné periody, v době mezi 7:30 – 13:00. Veškeré nakládání se zvířaty bylo schváleno odbornou komisí pro práci s laboratorními zvířaty při 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy a Psychiatrickém centru Praha a bylo provedeno v souladu se zákonem 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání a směrnicí 86/609/EU.

4.2. Experimentální látky

Pro pokusy byly použity následující látky: **psilocin** (4 mg/kg; rozpuštěn ve 2 ml fyziologického roztoku (0,9% NaCl), acidifikován 10 μl kyseliny octové a doplněn na celkový objem 5 ml; Farmaceutická fakulta Karlovy Univerzity v Hradci Králové), **LSD** fumarát (0,2 mg/kg; rozpuštěn ve 20 μl 96% etanolu/5 ml fyziologického roztoku; Farmaceutická fakulta Karlovy Univerzity v Hradci Králové), **meskalin** hydrochlorid (100 mg/kg; Sigma Aldrich) a **DOB** (5 mg/kg; Sigma Aldrich). Všechny substance byly aplikovány subkutánně v dávce 2 ml/1 kg hmotnosti zvířete. Dávky byly stanoveny na základě informací shrnutých v Tab. 2.1.

Fyziologický roztok (s 20 μ l 96% etanolu v případě LSD, 10 μ l kys. octové v případě psilocinu/5 ml fyziologického roztoku) byl použit jako placebo pro kontrolní skupinu.

4.3. Experimentální postupy

4.3.1. Stereotaktická operace

Potkani byli uvedeni do celkové anestezie isofluranem a upevnění do stereotaktické konstrukce (Stoelting), kde byli udržováni v anestezii maskou protékající 2,5 % isofluranu po zbytek operace. Po ostrihání chlupů a desinfekci byla obnažena lebka a periost dokonale oškrábán pomocí skalpelu. Případné krvácení bylo zastaveno mechanicky, nebo elektro-kauterem. Následně byla zaměřena bregma mikrovrtákem vrtačky stereotaktického aparátu a z jejích koordinát (odečtených ze stupnice stereotaktického aparátu) vypočteny koordináty jednotlivých elektrod. Ty byly stanoveny na základě stereotaktického atlasu (Paxinos & Watson 2007). Vzdálenost od bregmy: A = anteriorně, P = posteriorně, L = laterálně (viz obr. 4.1.):

F3/F4 – frontální asociační kůra (A= + 5,0 mm; L= \pm 2,0 mm);

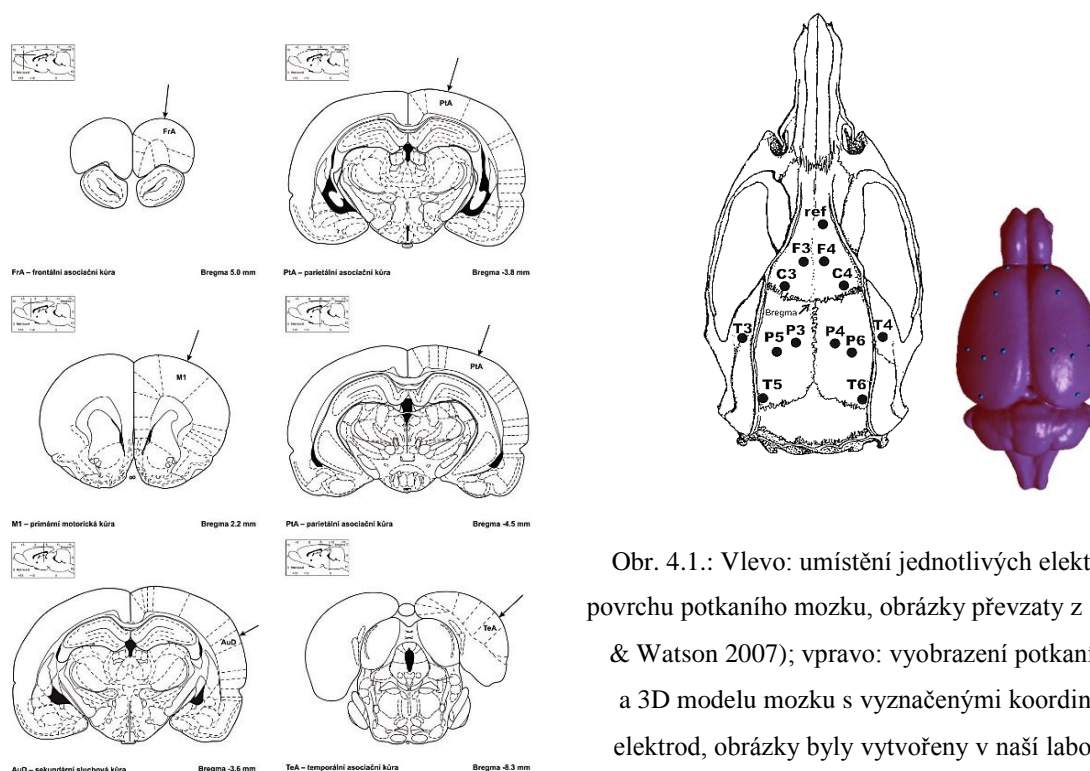
C3/C4 – primární motorická kůra (A= + 2,2 mm; L= \pm 3,2 mm);

P3/P4 – mediální parietální asociační kůra (P= + 3,8 mm; L= \pm 2,5 mm);

T3/T4 – sekundární sluchová kůra (P= + 3,6 mm; L= \pm 7,2 mm);

P5/P6 – laterální parietální asociační kůra (P= + 4,5 mm; L= \pm 4,5 mm);

T5/T6 – temporální asociační kůra (P= + 8,3 mm; L= \pm 5,8 mm);



Obr. 4.1.: Vlevo: umístění jednotlivých elektrod na povrchu potkaního mozku, obrázky převzaty z (Paxinos & Watson 2007); vpravo: vyobrazení potkaní lebky a 3D modelu mozku s vyznačenými koordinátami elektrod, obrázky byly vytvořeny v naší laboratoři.

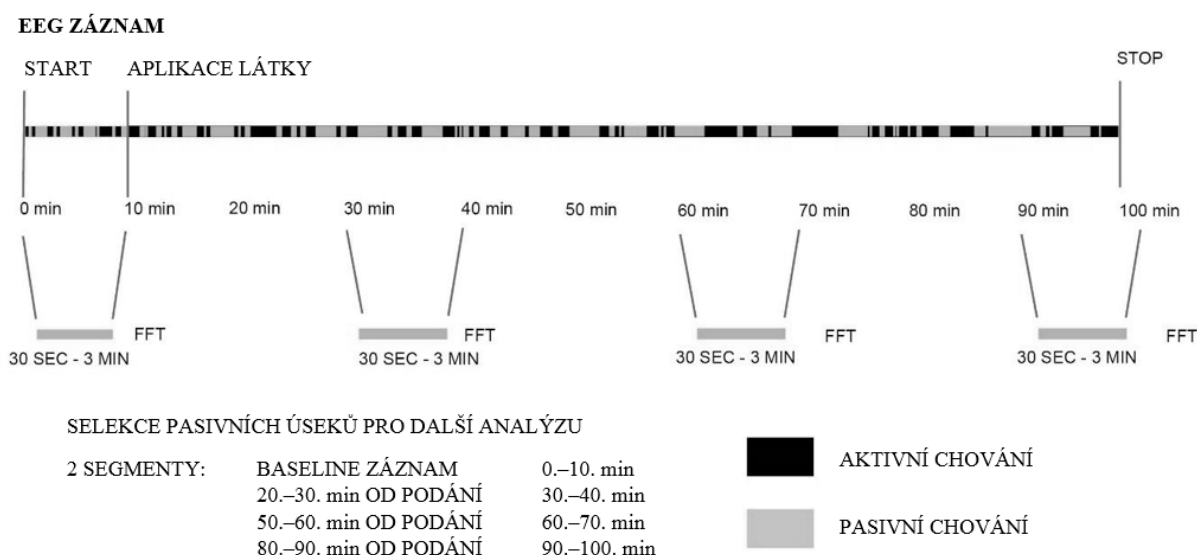
Dle zaměřených koordinát bylo vyvrtáno 12 děr + 1 anteriorně nad bulbus olfactorius (referenční el.) nerezovým mikrovrtákem firmy FST (Fine Science Tools) o průměru 0,5 mm. Vrtáno bylo vždy tak, aby vrták prošel lebkou, ale nepoškodil povrch mozku. Do vyvrtaných děr byly subdurálně umístěny pozlacené piny (elektrody) průměru 0,5 mm od firmy Mill-Max. Posteriozně byla subkutánně umístěna zemní elektroda. Po jejich vyrovnaní byl rozmíchán zubařský cement (Dentalon) o řídké konzistenci a lebka i s piny několikrát zalita, dokud nevznikla dostatečná vrstva pro zakrytí plastových pouzder pinů a poslední vrstva byla uhlazena zubařskou špachtlí. Celý tento proces vždy zabral asi 50 minut. Šestý den byl zvířeti pod krátkou isofluranovou anestezií připevněn konektor pro připojení k registračnímu setu (viz obrazovou přílohu 9.7.) a poté překryt buničinou a kusem chirurgické rukavice aby nedošlo k jeho poškození. Sedmý den byla podána látka a nahráváno EEG.

4.3.2. Registrace EEG

Registrace EEG probíhala ve speciálně upravené uzemněné izolované místnosti (Faradayova klec). EEG záznamy byly registrovány pomocí 21kanálového zesilovače BrainScope (Unimedis, Praha). Po upevnění potkana konektorem k nahrávacímu kabelu byl spuštěn záznam EEG. Nahráno bylo 10 minut klidového záznamu (baseline) a poté byla zvířatům subkutánně aplikována látka. Celková délka registrace jednoho EEG záznamu byla 100 minut a po jeho celou dobu se mohli potkani volně pohybovat ve svých ubikacích. Souběžně s registrací EEG bylo manuálně v programu Activities zaznamenáváno chování zvířat pozorované jak okénkem z druhé místnosti, tak na obrazovce obrazem přenášeným kamerou. Chování bylo klasifikováno na aktivní (běhání, chození, čištění, větší pohyby těla apod.) a pasivní (imobilita, čenichání bez pohybu celého těla, malé pohyby hlavou a malé pohyby bez pohybu končetin). Úseky odpovídající aplikaci látek byly značeny jako artefakt a následně vyřazeny z analýzy. Stejně tak byly pro další zpracování vyřazeny úseky, kdy potkani usínali a byli citlivě buzeni (To nastávalo především v případě fyziologického roztoku). EEG záznam byl ukládán na pevný disk nahrávacího počítače a po skončení pokusu zálohován na přenosný disk.

4.3.3. EEG analýza

Pro přítomnost artefaktů (především výpadek některého EEG kanálu) bylo nutné vyřadit několik záznamů. Do další analýzy vstoupilo 8 záznamů pro fyziologický roztok a psilocin, 9 pro LSD, 12 pro meskalin a 11 pro DOB. V programu WaveFinder v.2.6. (Unimedis, Praha) byl každý EEG záznam rozdělen na úseky odpovídající pasivnímu a aktivnímu chování dle templátu z programu Activities (viz Obr. 4.2.). Na záznam byl současně aplikován pásmový filtr a lineární FIR filtr (Finite Impulse Response je stabilní diskretní lineární filtr, který má konečnou impulzní odezvu) se 111 koeficienty v rozmezí 0,5–40 Hz. Data odpovídající pasivním úsekům chování byla následně importována do softwaru Neuroguide v.2.6.5. (Applied Neuroscience Inc.). Pro další analýzu byla použita pouze data odpovídající pasivnímu chování zvířat. Pro vlastní analýzu byly vybrány úseky EEG před aplikací látek (prvních 10 minut, baseline), 20–30 minut, 50–60 minut a 80–90 minut po aplikaci látek. Z každé části záznamu byly vždy manuálně vizuálně vyselektovány charakteristické reprezentativní bezartefaktové úseky o celkové délce 10 sekund sloužící jako vzor pro poloautomatický výběr dále provedený samotným programem Neuroguide. Kritéria pro selekci EEG úseků byla: 1) délka vzorku delší než 30 sekund; 2) vizuální inspekce digitálního záznamu EEG (bez artefaktů); 3) splnění split-half reliability $\geq 0,9$; 4) splnění test-retest reliability $\geq 0,9$ ¹². Vyselektované úseky byly dále podrobeny kvantitativní (spektrální a koherenční) analýze v programu Neuroguide.



Obr. 4.2.: Schéma selekce úseků pasivního chování

¹² Split-half reliability je poměr rozptylu podílu sudých a lichých jednosekundových úseků

Test-retest reliability je poměr rozptylu první poloviny vyselektovaných úseků vůči druhé polovině

Po rychlé Fourierově transformaci byla z každého vyselektovaného úseku vypočítána autospektra jednotlivých elektrod a cross-spektra vybraných elektrodových párů v následujících frekvenčních pásmech: delta (1–4 Hz), theta (4–7 Hz), alfa (8–12 Hz), beta (12–25 Hz), vysoká beta (25–30 Hz) a gama (30–40 Hz). EEG koherence byly vypočítány (jako druhá mocnina cross-spektra dělená součinem obou auto-spekter) pro 30 intrahemisferálních elektrodových párů: F3-C3, F3-P3, F3-P5, F3-T3, F3-T5, C3-P3, C3-P5, C3-T3, C3-T5, P3-P5, P3-T3, P3-T5, P5-T3, P5-T5, T3-T5 pro levou hemisféru a analogicky pro pravou: F4-C4, F4-P4, F4-P6, F4-T4, F4-T6, C4-P4, C4-P6, C4-T4, C4-T6, P4-P6, P4-T4, P4-T6, P6-T4, P6-T6, T4-T6 a 6 interhemisferálních elektrodových párů: F3-F4, C3-C4, P3-P4, P5-P6, T3-T4, T5-T6.

4.4. Statistika

ANOVA při opakovaných měřeních byla nejprve použita pro srovnání záznamů základních frekvenčních pásem výkonových spekter napříč všemi časy pro každou farmakologickou skupinu. Následně byl použit Tukeyův HSD (Honest Significant Difference) post hoc test pro vynesení změn v jednotlivých časech oproti klidovému záznamu. Pro srovnání všech látek mezi sebou v rámci jednotlivých časů byla nejdříve provedena ANOVA pro srovnání baseline jednotlivých látek, které se mezi sebou lišily. Aby bylo zabráněno falešné pozitivě (chybě prvního druhu), byla provedena analýza kovariance (ANCOVA) s baseline jako kovariátou. Pro srovnání látek mezi sebou byl použit Newman-Keuls post hoc test. EEG koherence byly srovnány pomocí párového T-testu (srovnání vlivu látky v daném čase oproti baseline (0–10 min)). ANOVA a ANCOVA byla provedena v programu Statistica v.9.0., párové T-testy pro koherence byly provedeny v programu Neuroguide Deluxe v. 2.6.7.4.. Ve všech případech byla hladina významnosti nastavena na $p < 0,05$.

Pro úpravu dat do grafické podoby byl použit program Microsoft Excel 2013 v případě spektrální analýzy výkonových spekter. Změny v koherencích byly názorně vyobrazeny za použití obrázků reálných potkaních mozků s adekvátním umístěním elektrod v programu Corel Draw Graphics Suite X8.

5. Výsledky

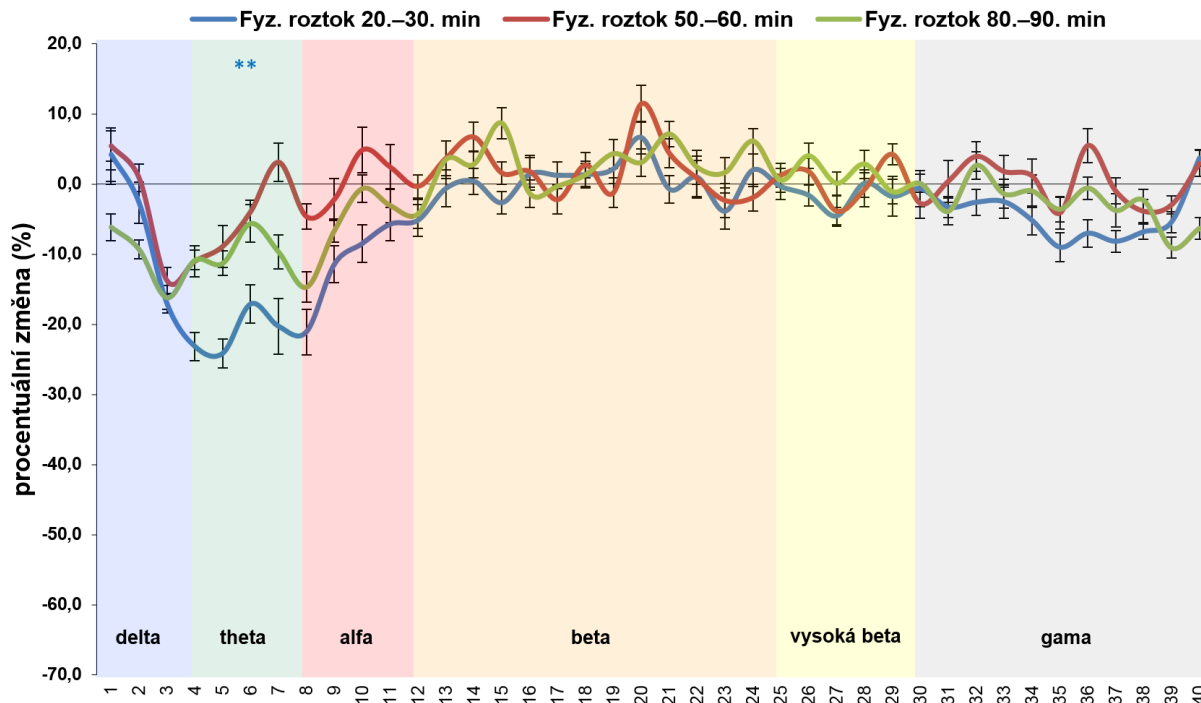
5.1 Srovnání účinku jednotlivých látek ve všech časech

Fyziologický roztok

Fyziologický roztok způsobil oproti baseline záznamu signifikantní pokles výkonu pouze v čase 20–30 minut po podání v pásmu theta, žádné další změny jsme nepozorovali.

	F(3, 21)	p
delta	2,043	< 0,05
theta	4,706	
alfa	1,285	
beta	0,157	
vysoká beta	0,505	
gama	1,471	

Tab. 5.1.: Statistické hodnoty ANOVA při opakovaných měřeních s p hodnotami pro fyz. roztok



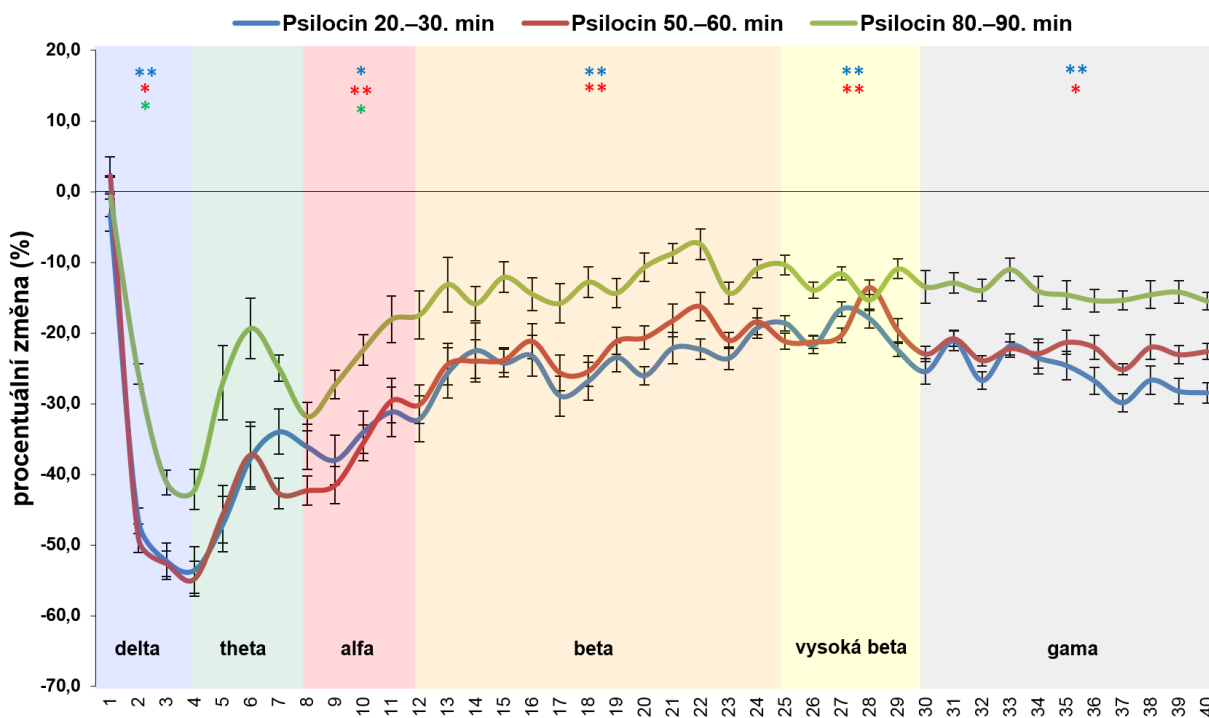
Obr. 5.1.: Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání fyziologického roztoku vs. baseline; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline. Hladina významnosti je značena $p < 0,01 = **$.

Psilocin

Psilocin v dávce 4 mg/kg vyvolal u pokusných zvířat v čase 20–30 minut po aplikaci signifikantní pokles výkonu napříč celým měřeným frekvenčním spektrem, kromě pásma theta. Velmi podobné změny přetrvávaly se stejným trendem i v druhém časovém úseku 50–60 minut, nicméně v čase 80–90 minut se hodnoty významně normalizovaly a signifikantní pokles zůstal pouze v pásnu delta a alfa.

	F(3, 21)	p
delta	6,148	< 0,01
theta	2,765	
alfa	6,356	< 0,01
beta	7,040	< 0,01
vysoká beta	5,881	< 0,01
gama	6,430	< 0,01

Tab. 5.2.: Statistické hodnoty ANOVA při opakovaných měřeních s p hodnotami pro psilocin.



Obr. 5.2.: Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání psilocinu vs. baseline v dávce 4 mg/kg; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.

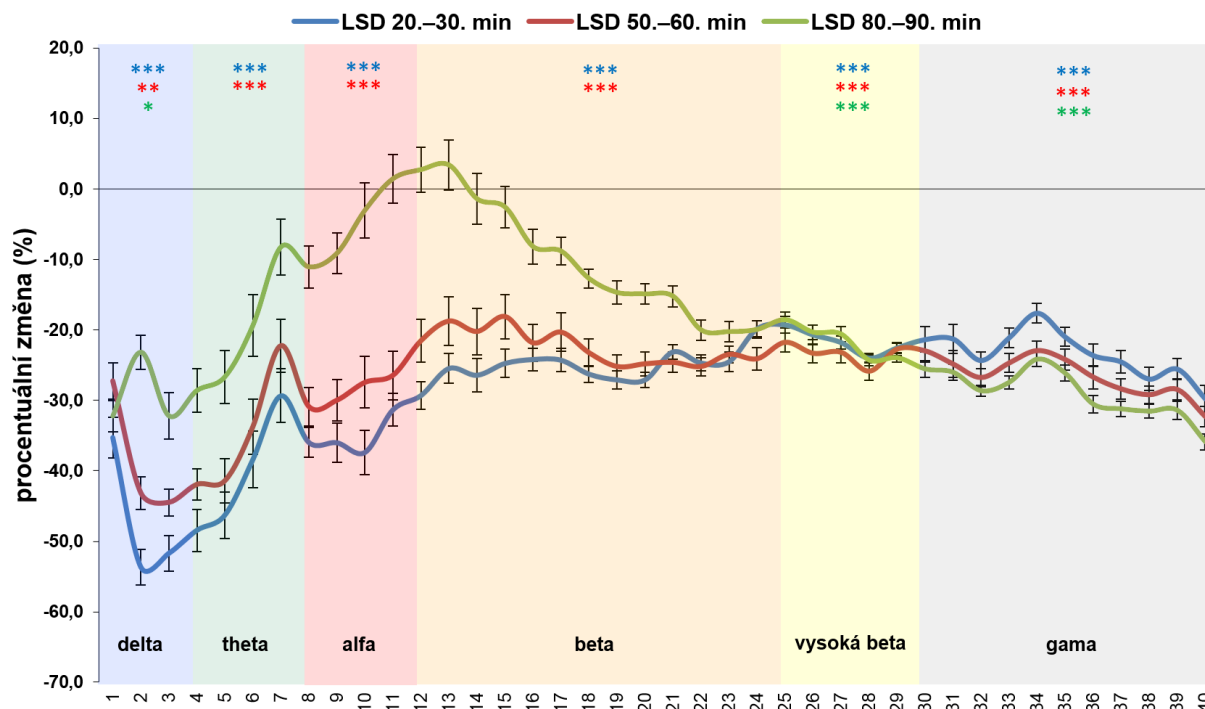
Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$.

LSD

Při srovnání s klidovým záznamem před aplikací, 0,2 mg/kg LSD způsobilo v čase 20–30 minut vysoce signifikantní pokles výkonu ve všech pásmech. V čase 50–60 minut nedošlo k žádným změnám oproti předchozímu času (kromě lehkého navrácení hodnot v pásmu delta). V posledním měřeném úseku (80–90 min) se výkon výrazně normalizoval v pásmech theta, alfa a beta (oproti baseline došlo až k mírnému nárůstu výkonu 11–13 Hz). Ve vyšších frekvenčních pásmech byl výkon stabilně snížen.

	F(3, 24)	p
delta	10,024	< 0,001
theta	12,898	< 0,001
alfa	14,573	< 0,001
beta	22,115	< 0,001
vysoká beta	43,824	< 0,001
gama	25,382	< 0,001

Tab. 5.3.: Statistické hodnoty ANOVA při opakovaných měřeních s p hodnotami pro LSD.



Obr. 5.3.: Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání LSD vs. baseline v dávce 0,2 mg/kg; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.

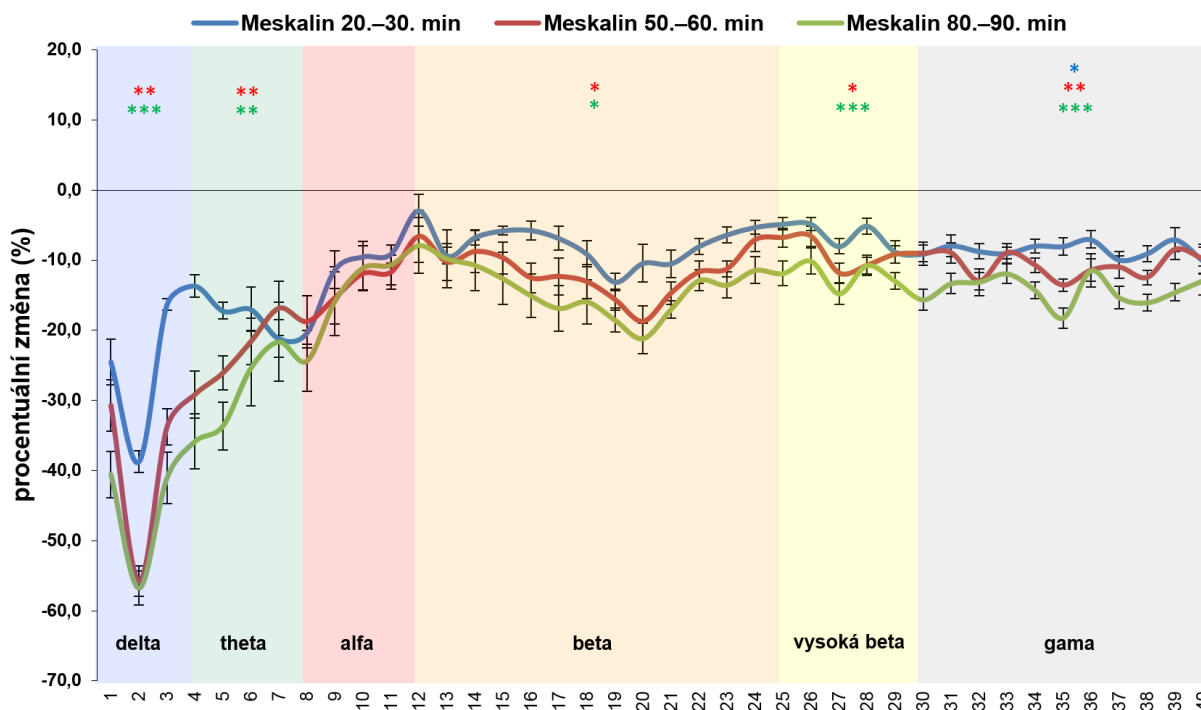
Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$.

Meskalin

Po aplikaci 100 mg/kg meskalinu došlo ke v čase se vyvíjejícímu snížení výkonu napříč frekvenčním spektrem, s výjimkou pásma alfa, kde změny nedosáhly statistické významnosti. V čase 20–30 minut po aplikaci nastalo signifikantní snížení výkonu pouze v pásmu gama. V čase 50–60 minut byl následován předchozí trend, ale signifikantního snížení již bylo dosaženo ve všech pásmech kromě alfy. V 80.–90. minutě stále docházelo ke snižování výkonu se stejným trendem, s vysoce signifikantními poklesy v pásmu delta, vysoká beta a gama.

	F(3, 33)	p
delta	8,066	< 0,001
theta	4,850	< 0,01
alfa	0,894	
beta	4,034	< 0,05
vysoká beta	6,931	< 0,001
gama	8,372	< 0,001

Tab. 5.4.: Statistické hodnoty ANOVA při opakovaných měřeních s p hodnotami pro meskalin.



Obr. 5.4.: Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání meskalinu vs. baseline v dávce 100 mg/kg; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.

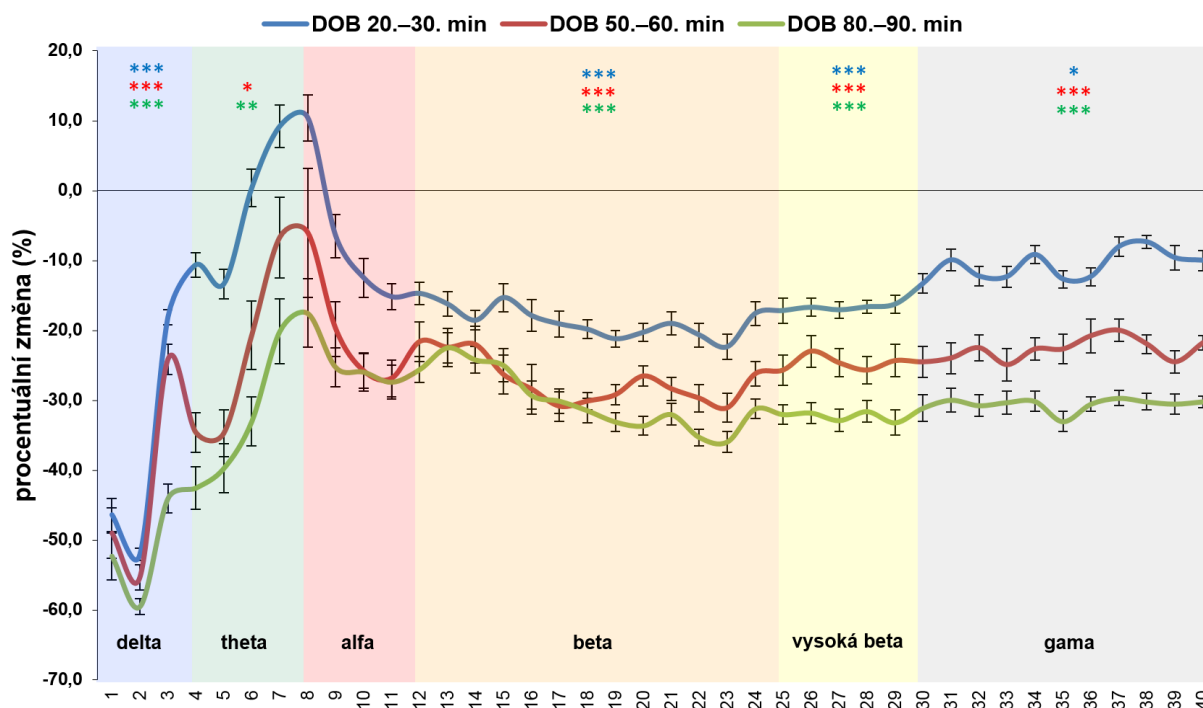
Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$.

DOB

DOB v dávce 5 mg/kg způsobilo velice silný pokles výkonu v pásmu delta a vyšších frekvenčních pásmech ve všech časech. Zároveň byl patrný v čase narůstající úbytek výkonu napříč všemi měřenými frekvencemi s analogickým trendem. Pro DOB charakteristický se ukázal nárůst (peak) výkonu na pomezí theta/alfa, jehož trend pozůstal i u snížených hodnot. V čase 20–30 minut po aplikaci nastalo snížení výkonu v pásmech delta, beta, vysoká beta, méně v pásmu gama a naopak k 12% zvýšení výkonu 7–8 Hz. V čase 50–60 minut po podání byl následován předchozí trend s prohloubením snížení v pásmu gama. V čase 80–90 minut docházelo k další progresi snížení spektrálního výkonu (theta a vyšší frekvence).

	F(3, 30)	p
delta	15,888	< 0,001
theta	8,891	< 0,001
alfa	3,839	< 0,05
beta	21,082	< 0,001
vysoká beta	31,519	< 0,001
gama	25,121	< 0,001

Tab. 5.5.: Statistické hodnoty ANOVA při opakovaných měřeních s p hodnotami pro DOB.



Obr. 5.5.: Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání DOB vs. baseline v dávce 5 mg/kg; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline. Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$.

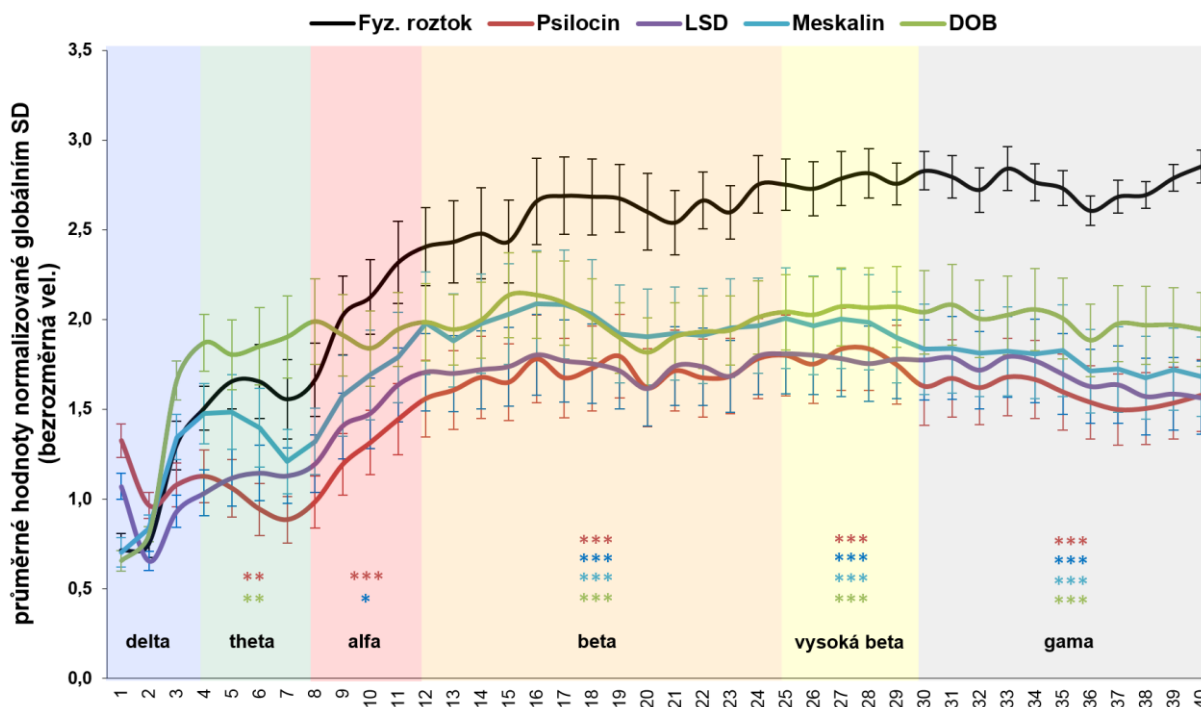
5.2. Srovnání účinků všech látek v jednotlivých časech

20.–30. minuta

V časovém úseku 20–30 minut nevynesla analýza ANCOVA žádné signifikantní změny výkonu v pásmu delta. Vyskytly se ale odlišnosti v pásmu theta (kontrolní skupina vs. psilocin a DOB; DOB vs. psilocin, LSD a meskalin; meskalin vs. psilocin) a pásmu alfa (kontrolní skupina vs. psilocin a LSD; DOB vs. psilocin, LSD a meskalin; meskalin vs. psilocin). Ve vyšších frekvencích se výkon všech aktivních látek významně ($p < 0,001$) odchýlil od průměrného výkonu kontrolní skupiny, přičemž změny od psilocinu vykazoval pouze meskalin (beta) a DOB (beta, gama).

delta	Současný efekt: $F(4, 42)=1,8201, p=0,14292$					alfa	Současný efekt: $F(4, 42)=5,8906, p=0,00074$					vysoká beta	Současný efekt: $F(4, 42)=3,9939, p=0,00779$				
	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1 kontrola						kontrola						kontrola					
2 psilocin						psilocin	***					psilocin	***				
3 LSD						LSD	*					LSD	***				
4 meskalin						meskalin		*				meskalin	***				
5 DOB						DOB		***	**	*		DOB	***				
theta	Současný efekt: $F(4, 42)=8,0840, p=0,00006$					beta	Současný efekt: $F(4, 42)=5,9091, p=0,00073$					gama	Současný efekt: $F(4, 42)=2,6824, p=0,04438$				
	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1 kontrola						kontrola						kontrola					
2 psilocin		**				psilocin	***					psilocin	***				
3 LSD						LSD	***					LSD	***				
4 meskalin			**			meskalin	***	*				meskalin	***				
5 DOB		**	***	***	*	DOB	***	*				DOB	***	*			

Tab. 5.6.: Statistické hodnoty ANCOVA s p hodnotami (hvězdičkami) post hoc testu pro měření v čase 20–30 min po aplikaci. Hodnoty p jsou pro přehlednost vyneseny pouze v horizontální rovině.



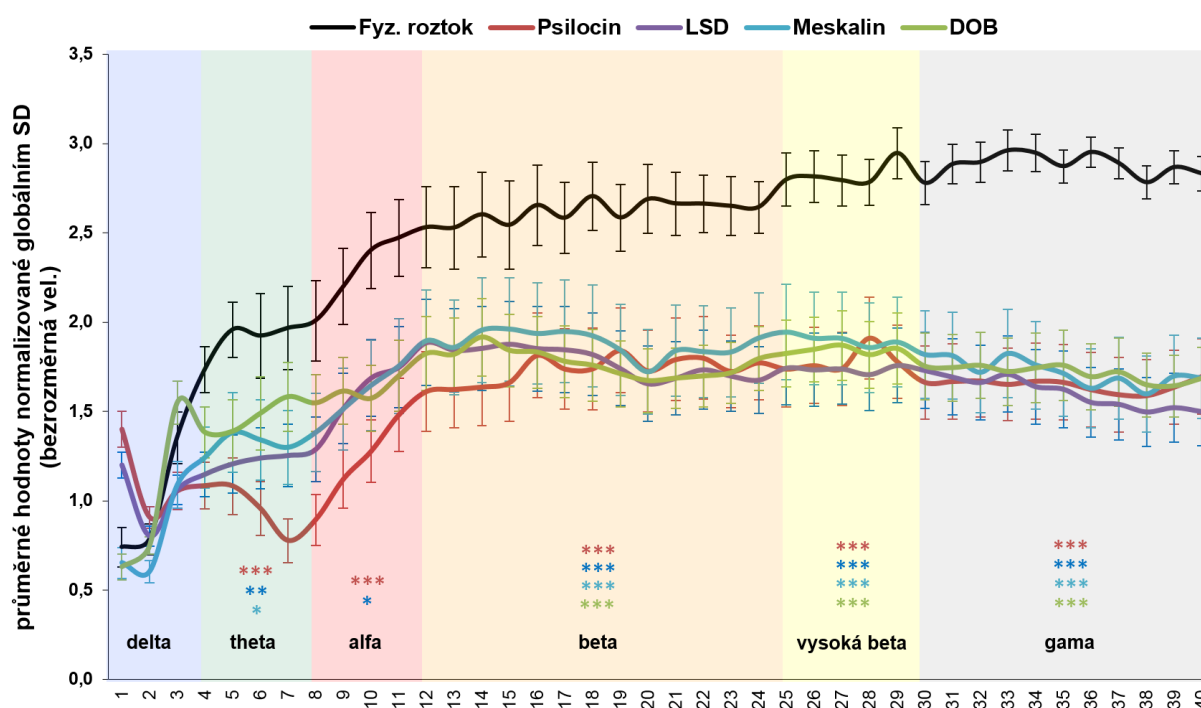
Obr. 5.6.: Průměrné hodnoty absolutního výkonu normalizované globálním SD pro všechny látky v čase 20–30 min po podání; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y bezrozměrná veličina (podíl průměrné hodnoty a globálního SD). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

50.–60. minuta

V čase 50–60 minut po podání pásma delta nevykazovalo žádné signifikantní rozdíly. Rozdíly mezi jednotlivými látkami vynesla analýza pouze v pásnu theta (kontrolní skupina vs. psilocin, LSD a meskalin; psilocin vs. LSD, meskalin a DOB), a pásnu alfa (kontrolní skupina vs. psilocin a LSD; DOB vs. psilocin). Silný pokles výkonu vůči kontrolní skupině charakterizuje všechny aktivní látky v pásmech beta, vysoká beta i gama s $p < 0,001$.

delta		Současný efekt: $F(4, 42)=1,8201, p=0,14292$					alfa		Současný efekt: $F(4, 42)=5,8906, p=0,00074$					vysoká beta		Současný efekt: $F(4, 42)=3,9939, p=0,00779$				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB			kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB			kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola						kontrola							kontrola						
2	psilocin						psilocin	***						psilocin	***					
3	LSD						LSD	*						LSD	***					
4	meskalin						meskalin							meskalin	***					
5	DOB						DOB		*					DOB	***					
theta		Současný efekt: $F(4, 42)=8,0840, p=0,00006$					beta		Současný efekt: $F(4, 42)=5,9091, p=0,00073$					gama		Současný efekt: $F(4, 42)=2,6824, p=0,04438$				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB			kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB			kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola						kontrola							kontrola						
2	psilocin	***					psilocin	***						psilocin	***					
3	LSD	**	*				LSD	***						LSD	***					
4	meskalin	*	*				meskalin	***						meskalin	***					
5	DOB		**				DOB	***						DOB	***					

Tab. 5.7.: Statistické hodnoty ANCOVA s p hodnotami (hvězdičkami) post hoc testu pro měření v čase 50–60 min po aplikaci. Hodnoty p jsou pro přehlednost vyneseny pouze v horizontální rovině.



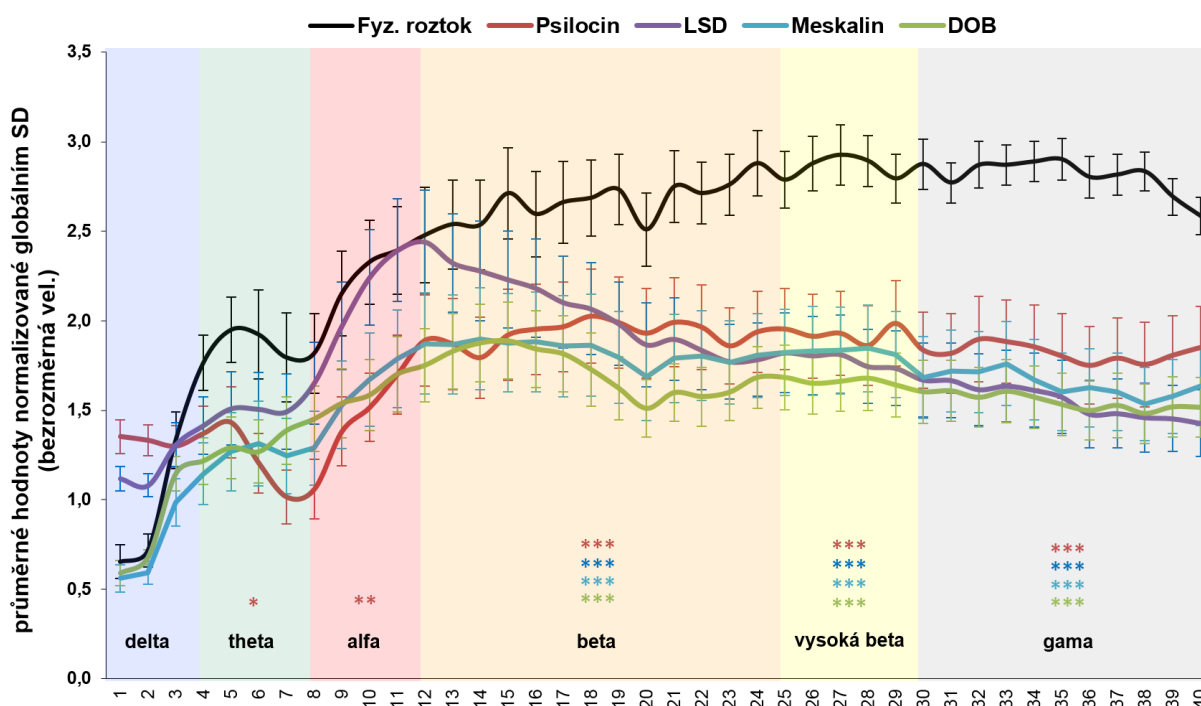
Obr. 5.7.: Průměrné hodnoty absolutního výkonu normalizované globálním SD pro všechny látky v čase 50–60 min po podání; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y bezrozměrná veličina (podíl průměrné hodnoty a globálního SD). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

80.–90. minuta

V nižších frekvenčních pásmech (delta–alfa) 80–90 minut od podání se již aktivní látky nelišily od kontrol (kromě psilocinu v pásmu theta a alfa), ani mezi sebou (kromě psilocinu od LSD v pásmu alfa). Ve vyšších frekvencích (beta–gama) výkon aktivních látek signifikantně lišil od kontrolní skupiny.

delta	Současný efekt: F(4, 42)=1,8201, p=0,14292					alfa	Současný efekt: F(4, 42)=5,8906, p=0,00074					vysoká beta	Současný efekt: F(4, 42)=3,9939, p=0,00779				
	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola					kontrola						kontrola					
2	psilocin					psilocin	**					psilocin	***				
3	LSD					LSD		**				LSD	***				
4	meskalin					meskalin						meskalin	***				
5	DOB					DOB						DOB	***				
theta	Současný efekt: F(4, 42)=8,0840, p=0,00006					beta	Současný efekt: F(4, 42)=5,9091, p=0,00073					gama	Současný efekt: F(4, 42)=2,6824, p=0,04438				
	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola					kontrola						kontrola					
2	psilocin	*				psilocin	***					psilocin	***				
3	LSD					LSD	***					LSD	***				
4	meskalin					meskalin	***					meskalin	***				
5	DOB					DOB	***					DOB	***				

Tab. 5.8.: Statistické hodnoty ANCOVA s p hodnotami (hvězdičkami) post hoc testu pro měření v čase 80–90 min po aplikaci. Hodnoty p jsou pro přehlednost vyneseny pouze v horizontální rovině.

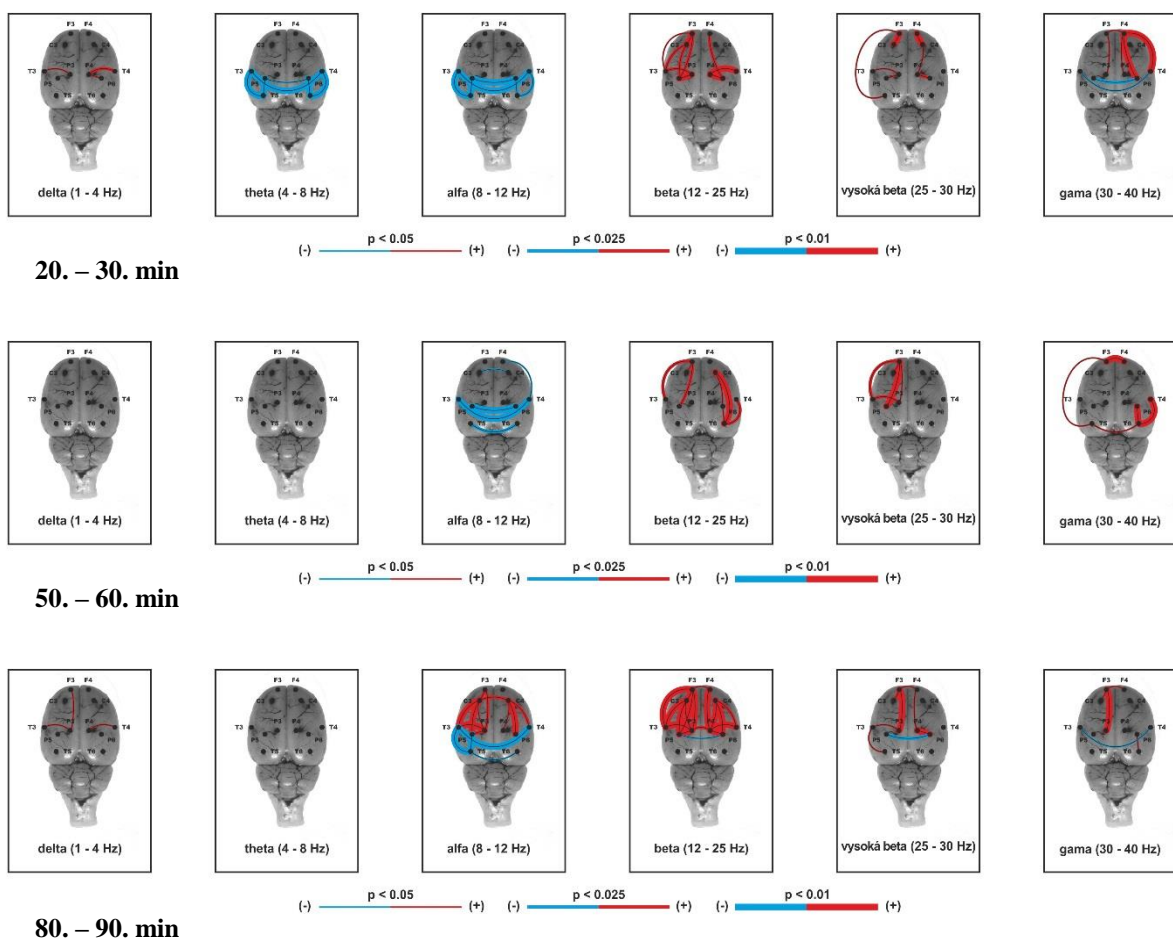


Obr. 5.8.: Průměrné hodnoty absolutního výkonu normalizované globálním SD pro všechny látky v čase 80–90 min po podání; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y bezrozměrná veličina (podíl průměrné hodnoty a globálního SD). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

5.3. EEG koherence

Fyziologický roztok

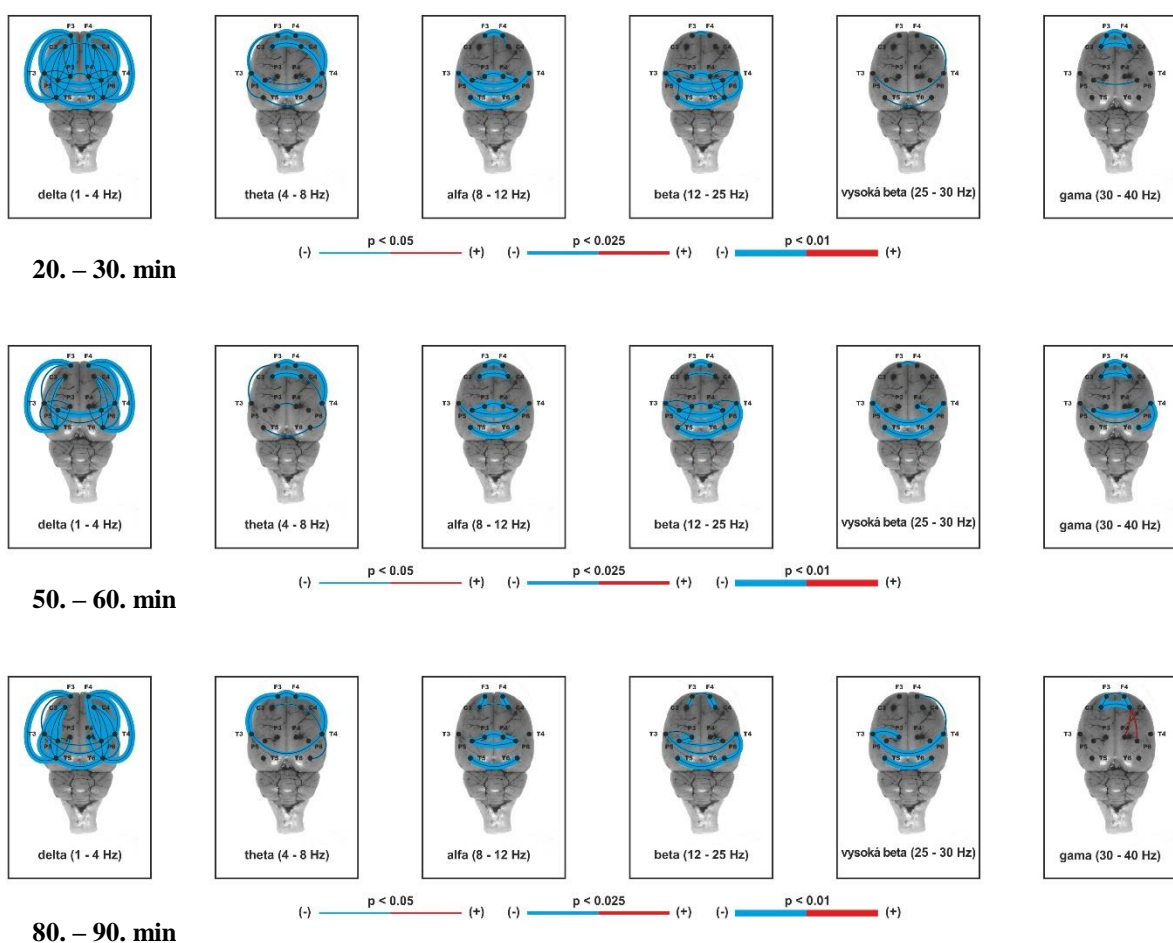
Podání fyziologického roztoku způsobilo po 20–30 minutách v mozku potkana mírně signifikantní snížení temporálních interhemisferálních koherencí v pásmu theta a alfa. V pásmu beta nastalo mírné zvýšení frontotemporálních koherencí a ve vyšších frekvencích lehké asymetrické změny. V 50.–60. minutě přetrvávalo temporální interhemisferální snížení v pásmu alfa a ve vyšších pásmech mírné intrahemisferální zvýšení. V posledním měřeném úseku v pásmu alfa přetrvávalo interhemisferální temporální snížení a zvýšení frontotemporálních koherencí v pásmu alfa–gama.



Obr. 5.9.: EEG koherence, fyziologický roztok vs. baseline; pokles modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legendu.

Psilocin

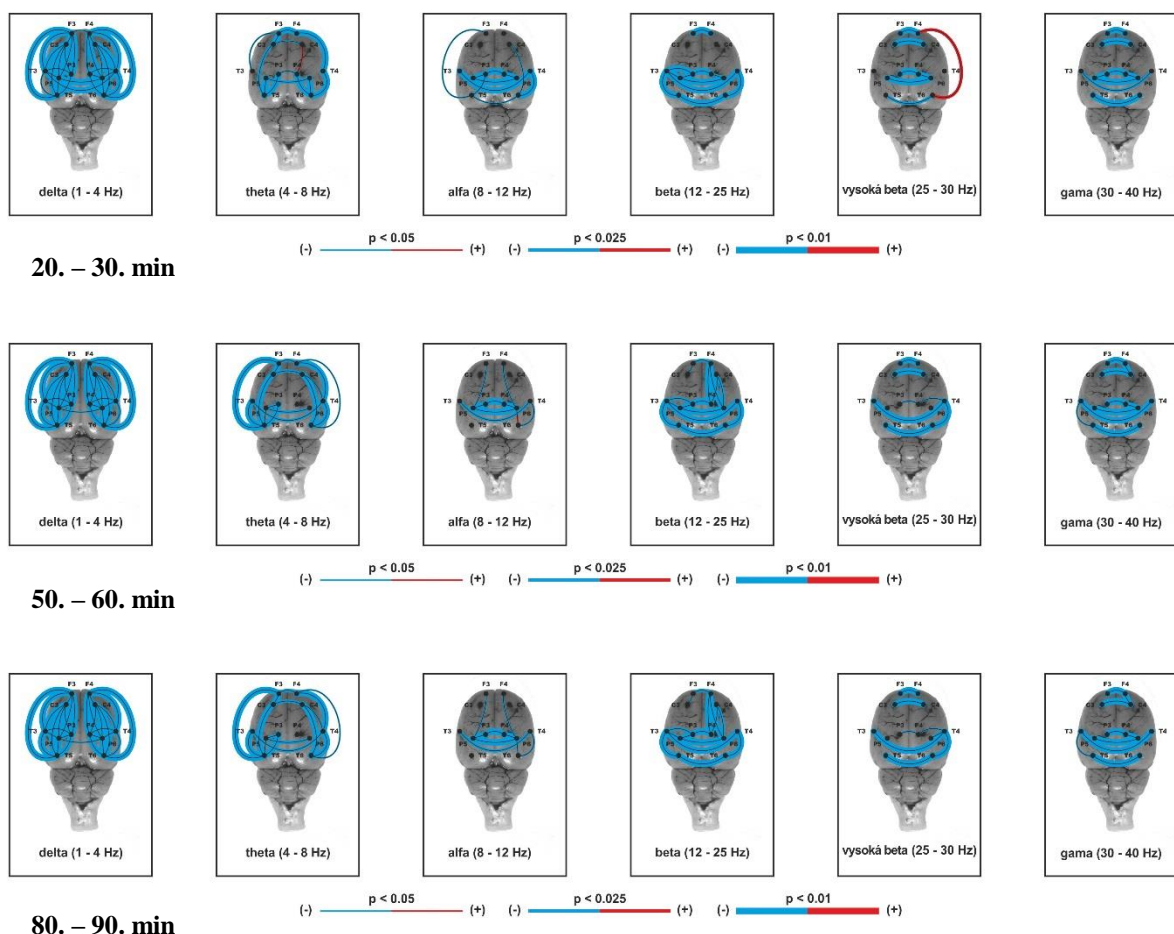
Psilocin ve 4 mg/kg vynesl nejmarkantnější pokles v pásmu delta jak intra- (frontotemporální koherence), tak interhemisferálně (bitemporální koherence). K výraznému snížení došlo také ve všech časech v pásmech alfa a beta mezi dlouhými interhemisferálními fronto-temporálními projekcemi. Ve vyšších frekvencích poklesla koherence dlouhých temporálních interhemisferálních projekcí vysoké bety, v pásmu gama se pak přidal pokles interhemisferálních frontálních koherencí.



Obr. 5.10.: EEG koherence, psilocin v aplikaci 4 mg/kg vs. baseline; pokles modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legendu.

LSD

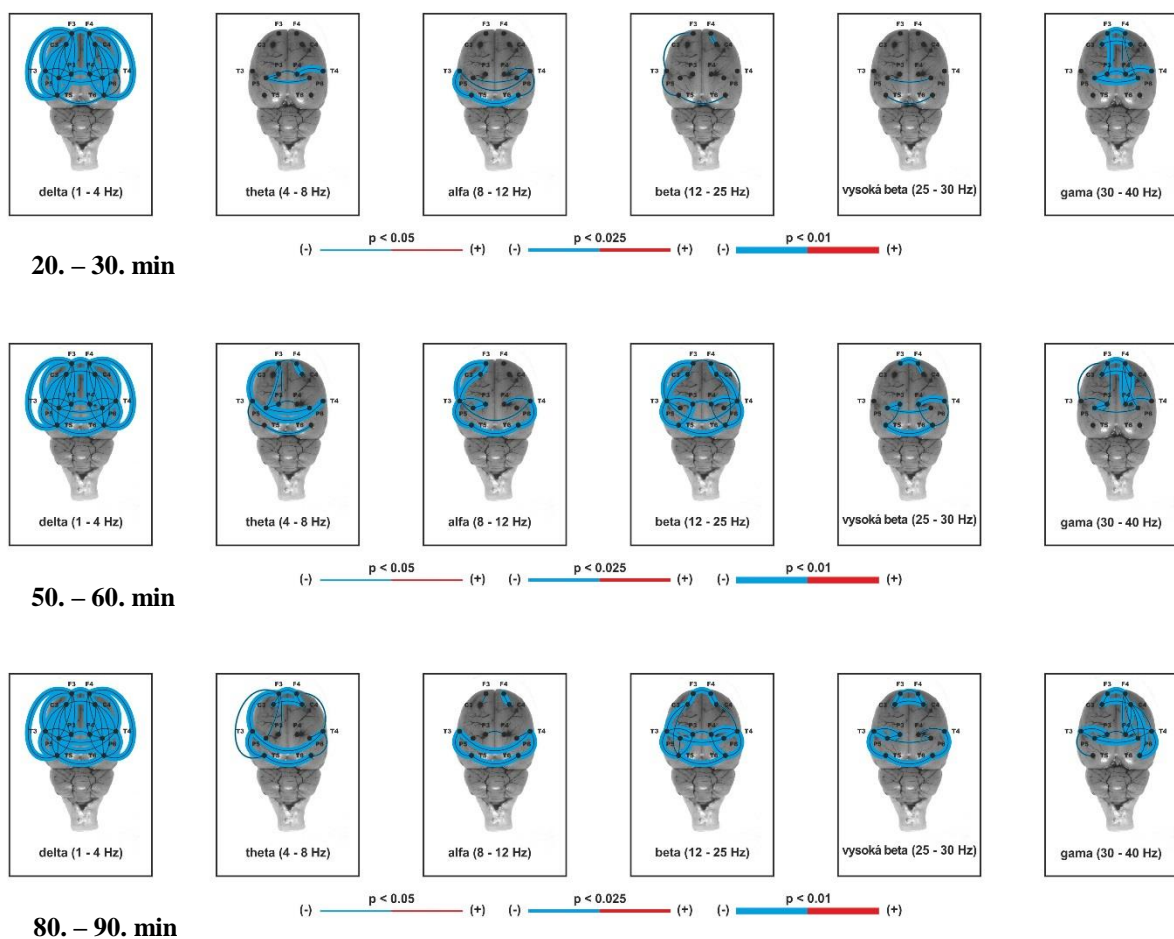
Veškeré indukované změny LSD v aplikaci 0,2 mg/kg byly po měřený čas relativně stálé. Nastal silný úbytek koherence v pásmu delta a to téměř výhradně intrahemisferálně. Intrahemisferální změny v pásmu theta byly zejména fronto-temporální. V alfa i beta pásmu došlo k signifikantnímu temporo-parietálnímu snížení koherencí. Interhemisferální pokles koherence ve vyšších frekvencích (vysoká beta, gama) nastal více mezi kortikálními oblastmi.



Obr. 5.11.: EEG koherence, LSD v aplikaci 0,2 mg/kg vs. baseline; pokles modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legendu.

Meskalin

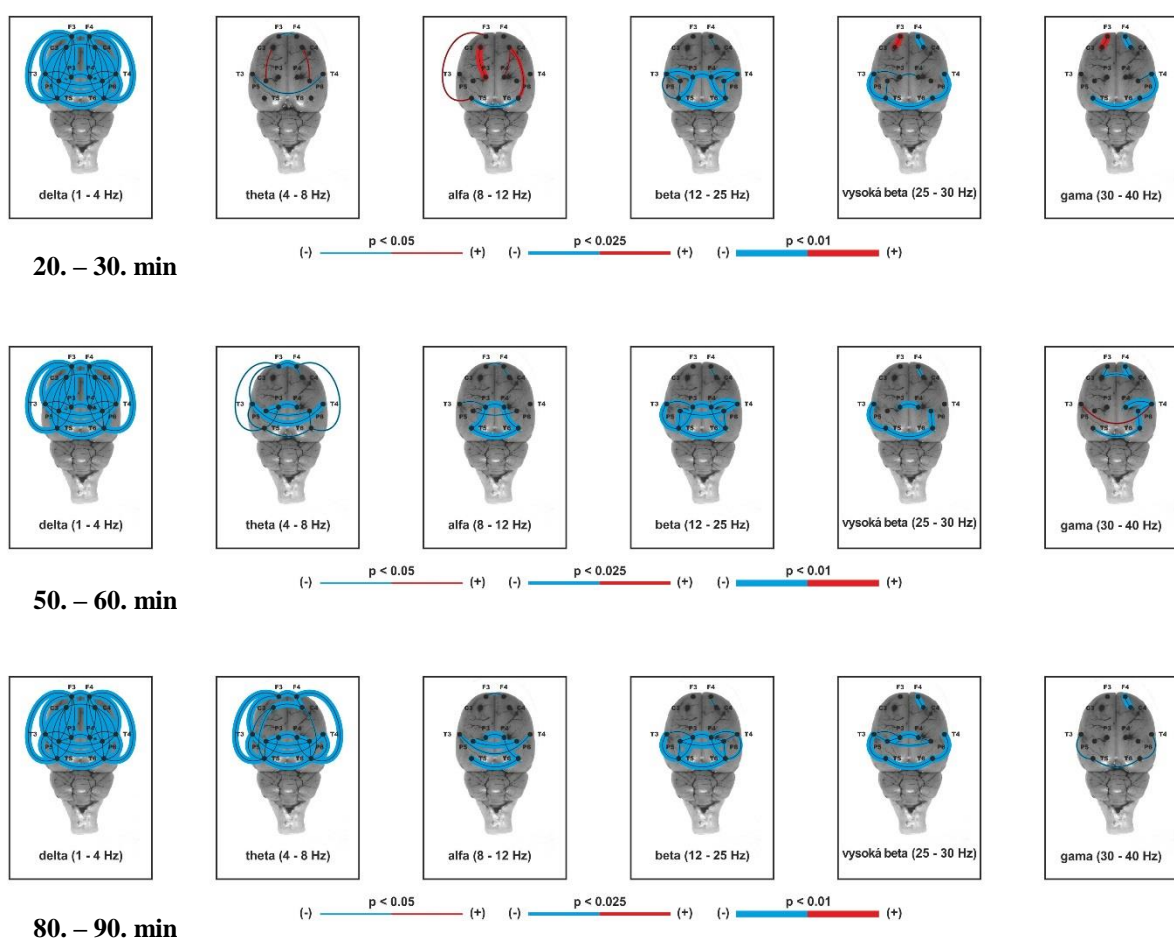
Po aplikaci meskalinu 100 mg/kg došlo v pásmu delta ve všech časech k výraznému poklesu koherencí napříč všemi vyhodnocovanými elektrodovými páry. Ve 20.–30. minutě po podání nastal dále pokles koherencí v pásmu gama ve frontálních a temporálních oblastech. V úsecích 50–60 a 80–90 minut po aplikaci byl pozorován pokles koherencí jak intra-, tak interhemisferálních napříč frekvenčním spektrem, místy dokonce asymetricky.



Obr. 5.12.: EEG koherence, meskalin v aplikaci 100 mg/kg vs. baseline; pokles modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legendu.

DOB

DOB v dávce 5 mg/kg způsobilo významný pokles koherence v pásmu delta jak intra-, tak interhemisferálně. V pásmu theta a alfa byl patrný časový vývoj účinku látky vedoucí k silnému poklesu koherence hlavně fronto-temporálně v alfě a bitemporálně. Koherence pásma alfa také vykazovaly časovou změnu od lehkého intrahemisferálního nárůstku po významný interhemisferální úbytek bitemporálně a biparietálně. Pokles koherencí v temporo-parietální oblasti charakterizoval i změny ve frekvenci beta. Pásmo gama vykazovalo pouze diskretní poklesy EEG koherencí.



Obr. 5.13.: EEG koherence, DOB v aplikaci 5 mg/kg vs. baseline; pokles modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legendu.

6. Diskuze

Hlavním nálezem této práce je celkové snížení spektrálního výkonu a pokles EEG koherencí indukované serotonergními halucinogeny psilocinem, LSD, meskalinem a DOB. Pozorované změny spektrálního výkonu dobře (kromě LSD v 80.–90. minutě) korelovaly s farmakokinetikou jednotlivých aktivních látek.

6.1. Spektrální výkon

Analýzou výkonových spekter po podání vybraných serotonergních halucinogenů z našich dat vyplývá, že všechny aplikované halucinogeny způsobily celkové snížení spektrálního výkonu oproti baseline záznamu. Nesignifikantní zvýšení výkonu bylo pozorováno pouze u LSD v 80.–90. minutě a DOB ve 20.–30. minutě.

Podání fyziologického roztoku zvířatům v kontrolní skupině vyvolalo signifikantní snížení výkonu pouze v první části měření. To lze vysvětlit iritací způsobenou manipulací se zvířetem a injekční aplikací, která vede k přechodné aktivizaci zvířat. Psilocin v dávce 4 mg/kg snížil spektrální výkon napříč frekvenčním pásmem. Nulové hodnoty výkonu v 1 Hz připisujeme technickému pochybení, jehož příčinu jsme ovšem neodhalili. Může jít o technickou vadu zaznamenávajícího přístroje, nebo pochybení v průběhu zpracování dat. Nejpravděpodobnější vysvětlení špatně nastaveného filtru se neukázalo jako správné. Trend k navrácení výkonu k hodnotám před aplikací v posledním časovém úseku (80–90 min od podání) odpovídá farmakokinetice psilocinu, kdy jeho plasmatická koncentrace dosahuje třetinových hodnot od dosažení vrcholu (v 15. min), jak je patrné na obr. 2.2. Podání 0,2 mg/kg LSD bezprostředně způsobilo výrazný pokles výkonu ve všech pásmech až do 60. minuty. V posledním časovém úseku (80–90 minut) je zřejmé postupné navrácení výkonu (delta–vysoká beta) k hodnotám před aplikací, v pásmu gama výkon nadále mírně poklesl. Podkladem pozorované dynamiky změn spektrálního výkonu může být afinita LSD k dopaminergním receptorům (mimo receptory serotonergní). V diskriminační studii na potkanech bylo prokázáno, že LSD vykazuje časově bifázický farmakologický účinek. První fáze, prostředkovaná 5-HT_{2A} receptory dosahuje maxima (schopnosti diskriminace) 30 min po podání a trvá asi hodinu, zatímco druhá fáze, prostředkovaná aktivací D2 a D4 receptorů dosahuje maxima kolem 90. minuty. Také prohloubení úbytku v gama pásmu může být vysvětleno tímto pozdním dopaminergním působením LSD (Marona-Lewicka & Nichols 2007; Marona-Lewicka et al. 2009). Silný efekt vyvolaný LSD v tak malé dávce může být připsán jeho vysoké afinitě k 5-HT_{2A} i 5-HT_{1A} receptoru (Rickli et al. 2015). Změny po aplikaci 100 mg/kg meskalinu se vyvíjely postupně

v čase – pokles výkonu narůstal od prvního do posledního měřeného časového úseku. Takový EEG profil lze přisoudit farmakokinetice meskalinu, jehož hladiny v mozku potkanů dosahují svého vrcholu až v 60. minutě, viz obr. 2.6. (Páleníček et al. 2008). Nutnost aplikace vysokých dávek (500krát vyšších než u LSD) vychází z velmi nízkých afinit meskalinu jak k 5-HT_{2A}, tak 5-HT_{1A} receptoru (Rickli et al. 2015). DOB v dávce 5 mg/kg způsobilo pokles výkonu oproti klidovému záznamu, který se prohluboval v čase (byl dokonce signifikantní i mezi jednotlivými měřeními). Silný účinek DOB je pravděpodobně způsoben jeho velmi vysokou afinitou k 5-HT_{2A} receptoru (Ray 2010). Skutečnost, že i v 90. minutě stále ještě docházelo k signifikantnímu snižování výkonu, odpovídá farmakokinetice DOB, při jejímž měření se i po 30-ti hodinách po aplikaci nacházelo v mozku potkanů množství této látky (Beránková et al. 2007), viz obr. 2.8. Pro DOB charakteristický se ukázal nárůst (peak) výkonu kolem 7–8 Hz, jehož trend pozůstal i u snížených hodnot. Tento výrazný vzor by mohl souviset s rozdílnými afinitami DOB k 5-HT_{2A} a 5-HT_{1A} receptoru. Na rozdíl od ostatních experimentálních látek, které mají afinity k těmto dvěma zásadním receptorům vždy přibližně podobné, má DOB k 5-HT_{1A} receptoru o dva řády nižší afinitu než k 5-HT_{2A}. To by mohlo znamenat, že DOB rafeální jádra inhibuje méně než ostatní použité halucinogeny a za současného agonismu 5-HT_{2A} receptorů v jisté míře stále dochází k zásobení mozku serotoninem (viz kapitola 2.2.2). Zároveň jsme zjistili, že 7–8 Hz nárůst výkonu vychází především z parietální oblasti (elektrody P3, P4, P5, P6, jak lze vidět v příloze 9.5.) a je tak velmi pravděpodobně odrazem činnosti hipokampu. 5-HT_{1A} receptory jsou receptory inhibiční a nachází se mimo dorsálních a mediálních rafeálních jader také v hipokampu, laterálním septu a entorhinálním kortexu (Siegel et al. 2006), tedy oblastech, kde vzniká RSA aktivita (kapitola 2.3.3.), základní aktivita potkana. Tyto oblasti jsou zásobeny serotoninem právě z rafeálních jader (Molliver 1987). RSA aktivita je tak DOB pravděpodobně ovlivněna méně.

Snížení výkonu v pásmu delta pozorované u všech látek lze interpretovat jako narušený přenos informace v thalamo-kortikálních okruzích. Stejně tak lze interpretovat úbytek výkonu v pásmu gama. (viz vznik delta a gama oscilací, kapitola 2.3.3.). Nejvýraznější změny výkonových spekter nastaly většinou v nejnižších a nejvyšších měřených frekvencích. Nejlépe je tento trend patrný v případě meskalinu, ale vidět je i u LSD, naopak méně je vyjádřen ve 20.–30. minutě po DOB (relativně nižší snížení gama a nárůst 7–8 Hz). Tento jev lze vysvětlit tím, že pomalejší časová koordinace gama oscilací je z velké části uskutečňována frekvencí pomalejších rytmů. Ve srovnání s neurony rychlých oscilací, neuronů s pomalejší aktivitou je více, rozmístěných ve větším objemu, čímž mohou svou rozlohou synchronizovat neurony

gama oscilace i na větší vzdálenosti (Von Stein & Sarnthein 2000). Jelikož je tato funkce mezifrekvenčního spřahování (cross-frequency coupling) připisována primárně košíčkovým neuronům, exprimujícím 5-HT_{2A} receptory (viz kapitolu 2.2.1. a 2.2.2. a obr. 2.5.) (Bragin et al. 1995), mohly by být popsané změny vysvětleny narušenou činností těchto buněk halucinogeny. Hierarchie fázicko-amplitudového spřahování je viděna jako mechanismus segmentace a spojování frekvenčního průběhu do buněčných shluků („písmen“) a těch pak do sekvence těchto shluků („slov“) (Buzsáki & Wang 2012). Tato skutečnost přispívá pohledu narušeného informačního zpracování v celém mozku způsobeného psychedeliky.

Srovnáním látek mezi sebou bylo zjištěno velice výrazné odchýlení hodnot spektrálního výkonu aktivních látek od fyziologického roztoku ve všech časech ve vysokých frekvencích (beta–gama) se stejným trendem. Jasně to vypovídá o farmakologické i neurobiologické podobnosti všech použitých halucinogenů. V nižších frekvencích byly rozdíly jak mezi fyziologickým roztokem, tak mezi aktivními látkami navzájem méně signifikantní (theta, alfa), či žádné (delta). Normalizace výkonu v případě psilocinu pozorovaná v kapitole 5.1. v čase 80–90 min je viditelná i v grafu srovnání všech látek, nicméně, je vzhledem k rozložení dat nesignifikantní. Stejně tak méně robustní změny pozorované u psilocinu a meskalinu při srovnání s baseline se ve srovnání všech látek vyrovnají potentnímu LSD a DOB.

6.2. EEG koherence

Po podání fyziologického roztoku došlo ve všech časech k mírnému snížení temporo-temporálních koherencí v pásmu alfa. V pásmu beta v 80.–90. minutě pak ke vzrůstu intrahemisferálních fronto-temporálních koherencí. Všechny čtyři zkoumané aktivní substance působily téměř výhradně významný pokles koherencí napříč všemi frekvencemi, s maximem v pásmu delta. Společné se ukázalo snížení koherencí ve středních frekvencích (alfa, beta) dlouhých interhemisferálních, především temporálních, ale také frontálních projekcí, někdy zasahujících i do frekvencí vyšších. Psilocin působil nejméně nápadné změny konektivity ze všech aktivních látek, shodně s nimi však způsobil nejmarkantnější pokles v pásmu delta a to jak intra-, tak interhemisferálně. V případě DOB a meskalinu došlo v pásmu delta k velmi silnému poklesu koherence mezi všemi elektrodovými páry. U LSD se tak překvapivě stalo pouze v rámci hemisfér (intrahemisferálně). V pásmu theta byly frontotemporální koherenční úbytky společné především pro LSD a DOB, interhemisferální temporální pak pro meskalin a DOB, v menší míře i pro psilocin a LSD. Ve vyšších frekvencích pak u všech látek poklesly významně temporo-temporální a v gamě i frontální koherence. Meskalin způsobil pokles i fronto-temporální.

6.3. Translační validita serotoninergního modelu

Pozorované snížení ve výkonových spektrech v našich modelech bylo doprovázeno též snížením EEG koherencí. Obě veličiny jsou na sobě ovšem svým charakterem nezávislé a pozorované snížení je pravděpodobně odrazem celkové desynchronizace jak na lokální úrovni korových sloupců, vyjádřené zmenšeným výkonem pod elektrodou, tak na makroskopické úrovni mozku, vyjádřené snížením koherence od sebe vzdálených elektrod (dlouhých projekčních drah).

Srovnání našeho modelu s pacienty trpícími schizofrenií je poněkud problematické z důvodu řady zavádějících faktorů souvisejících především s nehomogenitou souboru (druh léčby, fáze onemocnění, pozitivní/negativní symptomatika). Nejčastější nález výkonových spekter u schizofrenních pacientů je zvýšení výkonu v nižších frekvencích (delta–alfa) (Karson et al. 1987; Kahn et al. 1993; Harris et al. 2006), viz přílohu 9.1.), což s naším modelem nesouhlasí. Tento pokles může souviset jednak s kognitivním deficitem při chronifikaci onemocnění či s léčbou antipsychotiky, které EEG záznam výrazně ovlivňují. Elektroencefalografická data pro pacienty v průběhu akutní psychózy nejsou však k dispozici (metodická náročnost provedení vyšetření u nespolupracujících pacientů).

Nálezy EEG koherencí pacientů se schizofrenií jsou značně nehomogenní, nicméně bylo opakovaně prokázáno celkové postižení kortikální konektivity – funkční diskonekce mezi frontálními a temporálními kortikálními oblastmi, a to jak intra-hemisferální (fronto-temporální), tak inter-hemisferální (fronto-frontální a temporo-temporální, viz přílohu 9.1.) (Gerez & Tello 1995; Norman et al. 1997; Tauscher et al. 1998; Selemon & Goldman-Rakic 1999; Winterer et al. 2001; Lawrie et al. 2002). Dnes se na patologii schizofrenie nahlíží jako na patologii konektivity jak lokálních mikro-okruhů, tak dlouhých kortiko-kortikálních projekcí (diskonekce) (Friston & Frith 1995; Lawrie et al. 2002). Tyto nálezy našemu animálnímu modelu odpovídají. Abnormality EEG konektivity mohou vést u lidských subjektů k nedokonalé koordinaci činnosti velkých populací kortikálních neuronů s následnou změnou koaktivace hlavních neuronálních sítí, s výsledkem narušení vyšších mozkových procesů a fenomenologickým projevem změněného stavu vědomí. Narušenou konektivitu lze interpretovat také pomocí teorie entropického mozku (Carhart-Harris et al. 2014), kde lokální desynchronizace i diskonekce dlouhých projekcí jsou projevem zvýšené entropie neuronálních okruhů. Autor této teorie předpokládá, že zvýšení entropie je podkladem změněných stavů vědomí navozených různými fyziologickými i patologickými stavy.

Na rozdíl od pacientů se schizofrenií jsme našli nápadnou podobnost mezi QEEG lidí a zvířat pod vlivem serotoninergních halucinogenů. Srovnáme-li naše výsledky s QEEG nálezy

s humánními daty z literatury, dojdeme k jednoznačné shodě a to jak v případě spektrálního výkonu, tak koherencí (viz kapitolu 2.5. EEG a psychedelika). Velmi zajímavé je i porovnání získaných animálních dat s QEEG daty získanými recentně v naší laboratoři u humánních dobrovolníků pod vlivem psilocybinu (0,26 mg/kg perorálně). V analýze relativního¹³ spektrálního výkonu totiž došlo k poklesu pouze v nižších frekvencích, naopak ve vyšších frekvencích nad 20 Hz výkon výrazně narůstal (viz přílohu 9.6., nepublikovaná data – předběžná analýza). EEG konektivita byla shodně významně snížena v nižších frekvenčních pásmech a vykazovala podobnou dynamiku jako v našem animálním modelu. Ve vyšších frekvenčních pásmech docházelo i k diskrétním nárůstům konektivity. Odlišné změny u lidských dobrovolníků po intoxikaci psilocybinem můžou být způsobeny například činností vyšších asociačních oblastí mozku, které u potkana nejsou přítomny.

7. Závěr

Serotonergní halucinogeny navozují výrazné elektrofyziologické změny v mozku potkana obecně charakterizované snížením absolutního spektrálního výkonu (lokální desynchronizace) a poklesem EEG koherencí (diskonekce dlouhých projekčních drah). Výsledky také odhalily některé charakteristické vzory v EEG jednotlivých látek. Námi pozorované snížení funkční konektivity u potkanů bylo pozorováno taktéž u lidských subjektů pod vlivem psychedelik a je v některých případech společným nálezem u i pacientů v akutní fázi psychózy. Lze uzavřít, že analýza EEG signálu odpovídající behaviorální inaktivitě u volně se pohybujících laboratorních potkanů má translační validitu v serotonergním modelu psychózy.

¹³ Relativní výkon pásma je počítán jako podíl absolutního výkonu v daném pásmu k celkovému absolutnímu výkonu napříč všemi pásmy a je tak vhodnější pro porovnání mezidruhových rozdílů v QEEG

8. Seznam literatury

- Abi-saab, W.M. et al., 1999. 5-HT₂ Receptor Regulation of Extracellular GABA Levels in the Prefrontal Cortex. *NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY*, 20(1).
- Adey, R.W., Bell, F.R. & Dennis, B.J., 1962. Effects of LSD-25, psilocybin, and psilocin on temporal lobe EEG patterns and learned behavior in the cat. *Neurology*, 12, pp.591–602.
- Aghajanian, G.K. & Marek, G.J., 1996. Serotonin Induces Excitatory Postsynaptic Potentials in Apical Dendrites of Neocortical Pyramidal Cells. *Neuropharmacology*, 36(4-5), pp.589–599.
- Akpınar, S. et al., 1972. Blocking Effect of Chlorpromazine on LSD-25 Induced Clinical and Digital Computer Analyzed EEG Changes. *Clin EEG Neurosci*, 3(4), pp.224–232.
- Amzica, F., Massimini, M. & Manfredi, A., 2002. Spatial buffering during slow and paroxysmal sleep oscillations in cortical networks of glial cells in vivo. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(3), pp.1042–1053.
- Anderson, E.W. & Rawnsley, K., 1954. Clinical Studies of Lysergic Acid Diethylamide. *Mssch Psychiat Neurol*, 128, pp.38–55.
- Baker, E.F.W.F.W., 1964. the Use of Lysergic Acid Diethylamide (LSD) in Psychotherapy. *Canadian Medical Association Journal*, 91(23), pp.1200–1202. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1928491/>.
- Balíková, M., 2005. Nonfatal and fatal DOB (2,5-dimethoxy-4-bromamphetamine) overdose. *Forensic Science International*, 153(1), pp.85–91. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037907380500201X>.
- Basar, E. & Bullock, T.H., 1991. *Induced rhythms in the brain*, Springer.
- Baumeister, D. et al., 2014. Classical hallucinogens as antidepressants? A review of pharmacodynamics and putative clinical roles. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 4(4), pp.156–169. Available at: <http://tpp.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/2045125314527985>.
- Beránková, K., Szkutová, M. & Balíková, M., 2007. Distribution profile of 2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) in rats after oral and subcutaneous doses. *Forensic Science International*, 170(2-3), pp.94–99. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073807005518>.
- Berger, H., 1929. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Archiv für Psychiatrie and Nervenkrankheiten*, 278(1875), p.87: 527– 570.
- Biswal, B.B. et al., 2010. Toward discovery science of human brain function. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 107(10), pp.4734–4739.
- Body, S. et al., 2003. Effects of a 5-HT₂ receptor agonist, DOI (2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine), and antagonist, ketanserin, on the performance of rats on a free-operant timing schedule. *Behavioural pharmacology*, 14(8), pp.599–607.
- Bogenschutz, M.P. et al., 2015. Psilocybin-assisted treatment for alcohol dependence: A proof-of-concept study. *Journal of Psychopharmacology*, 29(3), pp.289–299. Available at: <http://jop.sagepub.com/content/early/2015/01/08/0269881114565144.abstract>.
- Bogenschutz, M.P. & Pommy, J.M., 2012. Therapeutic mechanisms of classic hallucinogens in the treatment of addictions: From indirect evidence to testable hypotheses. *Drug Testing and Analysis*, (January).
- Bradley, P.B. & Elkes, J., 1957. The Effects of Some Drugs on the Electrical Activity of the Brain. *BRAIN*, 80(1), pp.77–117.
- Bragin, a et al., 1995. Gamma (40-100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(1 Pt 1), pp.47–60.
- Brandrup, E. & Vanggaard, T., 1977. LSD treatment in a severe case of compulsive neurosis.

- Acta psychiatrica Scandinavica*, 55(2), pp.127–41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/842386>.
- Brunovský, M. et al., 2004. The relationship between EEG coherence and regional brain metabolism in patients with schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 14, pp.S71–S72.
- Buckner, R.L., Andrews-Hanna, J.R. & Schacter, D.L., 2008. The brain's default network: Anatomy, function, and relevance to disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124, pp.1–38.
- Buzsáki, G., 1996. The Hippocampo-Neocortical Dialogue. *Cerebral Cortex*, 6, pp.81–92.
- Buzsáki, G., 2002. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33(3), pp.325–340.
- Buzsáki, G. & Wang, X.-J., 2012. Mechanisms of Gamma Oscillations. *Annual Review of Neuroscience*, 35(1), pp.203–225.
- Carhart-harris, R.L. et al., 2016. Neural correlates of the LSD experience revealed by multimodal neuroimaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, pp.2–7.
- Carhart-Harris, R.L. et al., 2012. Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(6), pp.2138–2143. Available at: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1119598109>.
- Carhart-Harris, R.L. et al., 2014. The entropic brain: a theory of conscious states informed by neuroimaging research with psychedelic drugs. *Frontiers in human neuroscience*, 8(February), p.20. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3909994&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed March 19, 2014].
- Celada, P. et al., 2008. The Hallucinogen DOI Reduces Low-Frequency Oscillations in Rat Prefrontal Cortex: Reversal by Antipsychotic Drugs. *Biological Psychiatry*, 64(5), pp.392–400. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322308003363>.
- Cohen, S., 1960. Lysergic Acid Diethylamide: side effects and complications. *J Nerv Ment Dis*, (130), pp.30–40.
- Contreras, D. & Steriade, M., 1995. Cellular basis of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(1 Pt 2), pp.604–622.
- Cooley, J.W. & Tukey, J.W., 1965. An Algorithm for Machine Calculation of Complex Fourier Series. *Mathematics of Computation*, 19(90), p.297–&. Available at: <Go to ISI>://WOS:A19656458200011.
- Crawley, J.N., 2007. *What's Wrong With My Mouse ?* second edi., John Wiley & Sons, Inc.
- Dittrich, a., 1998. The standardized psychometric assessment of altered states of consciousness (ASCs) in humans. *Pharmacopsychiatry*, 31(S2), pp.80–84.
- Don, N.S. et al., 1998. Effects of Ayahuasca on the human EEG. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 5(2), pp.87–96. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23195759> [Accessed April 4, 2014].
- Dyck, E., 2005. Flashback: Psychiatric Experimentation With LSD in Historical Perspective. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 50(7), pp.381–388.
- Edelman, G.M., 2003. Naturalizing consciousness: a theoretical framework. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(9), pp.5520–5524.
- El-Seedi, H.R. et al., 2005. Prehistoric peyote use: alkaloid analysis and radiocarbon dating of archaeological specimens of Lophophora from Texas. *Journal of ethnopharmacology*, 101(1-3), pp.238–42. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105002990> [Accessed April

- 4, 2014].
- Elul, R., 1972. The Genesis of the Eeg. *International Review of Neurobiology*, 15, pp.227–272.
- Faber, J., 2001. *Elektroencefalografie a psychofyziologie*, ISV nakladatelství.
- Feshchenko, V. a, Reinsel, R. a & Veselis, R. a, 2001. Multiplicity of the alpha rhythm in normal humans. *Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society*, 18(4), pp.331–344.
- Fink, M., 1969. EEG and human psychopharmacology. *Annual Review of Pharmacology*.
- Ford, J.M. et al., 2002. Reduced communication between frontal and temporal lobes during talking in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 51(6), pp.485–492.
- Fox, M.D. & Raichle, M.E., 2007. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci*, 8(9), pp.700–711.
- Freeman, W.J., 1994. Characterization of state transitions in spatially distributed, chaotic, nonlinear, dynamical systems in cerebral cortex. *Integr Physiol Behav Sci*, 29(3), pp.294–306.
- Friston, K.J. & Frith, C.D., 1995. Schizophrenia: a disconnection syndrome? *Clinical neuroscience (New York, N.Y.)*, 3(2), pp.89–97.
- Gallinat, J. et al., 2004. Reduced oscillatory gamma-band responses in unmedicated schizophrenic patients indicate impaired frontal network processing. *Clinical Neurophysiology*, 115(8), pp.1863–1874.
- Gasser, P., Kirchner, K. & Passie, T., 2015. LSD-assisted psychotherapy for anxiety associated with a life-threatening disease: A qualitative study of acute and sustained subjective effects. *Journal of Psychopharmacology*, 29(1), pp.57–68. Available at: <http://jop.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0269881114555249>.
- Gastaut, H. et al., 1953. [Effect of the d-lysergic acid diethylamide on the psychic functions and on electroencephalogram]. *Confinia Neurologica*, 13(2), pp.102–120. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13060015>.
- Gennaro, L. De & Ferrara, M., 2003. Sleep spindles: an overview. *Sleep Medicine*, 7(800), pp.422–440.
- Gerault, A. & Picart, D., 1996. INTOXICATION MORTELLE A LA SUITE DE LA CONSOMMATION VOLONTAIRE ET EN GROUPE DE CHAMPIGNONS HALLUCINOGENES. *Bull.Soc. Mycol. France*, t. 112, p.1-14. Available at: <http://www.lycaeum.org/drugs.old/plants/mushrooms/fatal-report.html> [Accessed April 2, 2014].
- Gerez, M. & Tello, a, 1995. Selected quantitative EEG (QEEG) and event-related potential (ERP) variables as discriminators for positive and negative schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 38(1), pp.34–49. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7548470.
- Geyer, M. a, 1998. Behavioral studies of hallucinogenic drugs in animals: implications for schizophrenia research. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 2(S 2), pp.73–9. Available at: <https://www.thieme-connect.com/DOI/DOI?10.1055/s-2007-979350>.
- Glennon, R.A. et al., 1983. DOM-STIMULUS GENERALIZATION TO LSD AND OTHER HALLUCINOGENIC INDOLEALKYLAMINES. *Elsevier Biomedical Press*, 86, pp.453–459.
- Goldman-Rakic, P.S. & Selemon, L.D., 1997. Functional and Anatomical Aspects of Prefrontal Pathology in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 23(3), pp.437–458.
- Goldstein, L., Murphree, H.B. & Sugarman, A.A., 1963. Quantitative electroencephalographic analysis of naturally occurring (schizophrenic) and drug-induced psychotic states in human males. *Clin. Pharmacol. Ther.*, pp.10–21.

- Goldstein, L. & Stoltzfus, N.W., 1973. Psychoactive drug-induced changes of interhemispheric EEG amplitude relationships. *Agents and Actions*, 3(2), pp.124–132. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4146936>.
- González-Maeso, J. et al., 2003. Transcriptome Fingerprints Distinguish Hallucinogenic and Nonhallucinogenic 5-Hydroxytryptamine 2A Receptor Agonist Effects in Mouse Somatosensory Cortex. *Journal of Neuroscience*, 23, pp.8839–8843. Available at: <http://www.jneurosci.org/content/23/26/8836.full.pdf> [Accessed March 23, 2014].
- Gouzoulis-Mayfrank, E. et al., 1999. Neurometabolic effects of psilocybin, 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE) and d-methamphetamine in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 20(6), pp.565–581.
- Griffiths, R.R., Johnson, M.W. & Richards, W.A., 2008. Human Hallucinogenic Research: guidelines for safety. *Journal of Psychopharmacology*. Available at: <http://csp.org/psilocybin/HopkinsHallucinogenSafety2008.pdf> [Accessed March 30, 2014].
- Grinspoon, L. & Bakalar, J.B., 1983. *Psychedelic Reflections* 1. ed., New York: Human Sciences Press, Inc. Available at: <http://www.scribd.com/doc/19720797/Psychedelic-Reflections> [Accessed March 30, 2014].
- Grob, C.S. et al., 2011. Pilot study of psilocybin treatment for anxiety in patients with advanced-stage cancer. *Archives of general psychiatry*, 68(1), pp.71–78.
- Grof, S., 1980. *LSD Psychotherapy*, Hunter House Publishers.
- Haig, A.R. et al., 2000. Gamma activity in schizophrenia: evidence of impaired network binding? *Clinical Neurophysiology*, 111(8), pp.1461–1468.
- Haigler, H.J. & Aghajanian, G.K., 1973. Mescaline and LSD: direct and indirect effects on serotonin-containing neurons in brain. *European Journal of Pharmacology*, 21, pp.53–60.
- Halberstadt, A.L., 2014. Recent advances in the neuropsychopharmacology of serotonergic hallucinogens. *Behavioural Brain Research*, 277, pp.99–120. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432814004562>.
- Halberstadt, A.L. & Geyer, M. a., 2011. Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens. *Neuropharmacology*, 61(3), pp.364–381. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390811000207>.
- Halpern, J.H. & Pope, H.G., 2002. Hallucinogen persisting perception disorder: what do we know after 50 years? *Elsevier Science Inc.* Available at: http://ac.els-cdn.com/S037687160200306X/1-s2.0-S037687160200306X-main.pdf?_tid=a997c64c-b84f-11e3-94ae-00000aacb35e&acdnat=1396213983_068f5256ab904ba00dfd7dd9a5ebc43b [Accessed March 30, 2014].
- Harris, A. et al., 2006. Dynamic Spectral Analysis Findings in First Episode and Chronic Schizophrenia. *International Journal of Neuroscience*, 116(3), pp.223–246. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00207450500402977>.
- Hasler, F. et al., 2004. Acute psychological and physiological effects of psilocybin in healthy humans: a double-blind, placebo-controlled dose?effect study. *Psychopharmacology*, 172(2), pp.145–156. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-003-1640-6>.
- Hausner, M., 2009. *LSD: The Highway to Mental Health*, ASC Books.
- Hoffer, A., Osmond, H. & Weckowicz, T., 1967. THE HALLUCINOGENS.
- Hofmann, A., 1997. *LSD - mé nezvedené dítě*, Profess.
- Hoch, P.H., Cattell, J.P. & Pennes, H.H., 1952. Effects of mescaline and lysergic acid (d-LSD-25). *The American journal of psychiatry*, 108, pp.579–584.
- Horovitz, Z.P. et al., 1965. Behavioral and Electroencephalographic Effects of LSD. *J. Pharm. Sci.*, 54, pp.108–110.

- Hoyer, D., Hannon, J.P. & Martin, G.R., 2002. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(4), pp.533–554. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305701007468> [Accessed March 23, 2014].
- Hughes, J.R. & John, E.R., 1999. Conventional and quantitative electroencephalography in psychiatry. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 11(2), pp.190–208.
- Hurlemann, R. et al., 2008. 5-HT_{2A} receptor density is decreased in the at-risk mental state. *Psychopharmacology*, 195(4), pp.579–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17899021> [Accessed May 2, 2014].
- Hurlemann, R. et al., 2009. Reduced 5-HT_{2A} receptor signaling following selective bilateral amygdala damage. *Social cognitive and affective neuroscience*, 4(1), pp.79–84. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2656878&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed March 25, 2014].
- Chweitzer, A., Geblewicz, E. & Liberson, W., 1936. Étude de l'électrencéphalogramme humain dans un cas d'intoxication mescalinique. *L'année psychologique*, 37, pp.94–119.
- Jakab, R.L. & Goldman-Rakic, P.S., 1998. 5-Hydroxytryptamine 2A serotonin receptors in the primate cerebral cortex : Possible site of action of hallucinogenic and antipsychotic drugs in pyramidal cell apical dendrites. *The National Academy of Sciences*, 95(January), pp.735–740.
- Johansen, P.-Ø. & Krebs, T.S., 2015. Psychedelics not linked to mental health problems or suicidal behavior: A population study. *Journal of Psychopharmacology*, 29(3), pp.270–279.
- John, J.P. et al., 2009. Differentiate Positive and Negative Subgroups in Schizophrenia Patients. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 21(2), pp.160–172.
- Johnson, M. et al, 2015. Psychedelic medicine: a re-emerging therapeutic paradigm. *CMAJ*, 187(14), pp.1054–9.
- Kahn, E.M. et al., 1993. Spectral and topographic analysis of EEG in schizophrenic patients. *Biological psychiatry*, 33(4), pp.284–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8471683>.
- Kanayama, N., Sato, A. & Ohira, H., 2007. Crossmodal effect with rubber hand illusion and gamma-band activity. *Psychophysiology*, 44(3), pp.392–402.
- Karson, C.N. et al., 1987. Computed electroencephalographic activity mapping in schizophrenia. The resting state reconsidered. *Arch Gen Psychiatry*, 44(6), pp.514–517. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3495249.
- Kleven, M.S., Assié, M.B. & Koek, W., 1997. Pharmacological characterization of in vivo properties of putative mixed 5-HT_{1A} agonist/5-HT_{2A/2C} antagonist anxiolytics. II. Drug discrimination and behavioral observation studies in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282(2), pp.747–759. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9262338>.
- Klock, J.C., Boerner, U. & Becker, C.E., 1974. Coma, hyperthermia and bleeding associated with massive LSD overdose. A report of eight cases. *The Western journal of medicine*, 120(3), pp.183–8.
- Knyazev, G.G., 2012. EEG delta oscillations as a correlate of basic homeostatic and motivational processes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(1), pp.677–695. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.10.002>.
- Krebs, T.S. & Johansen, P.-O., 2012. Lysergic acid diethylamide (LSD) for alcoholism: meta-

- analysis of randomized controlled trials. *Journal of Psychopharmacology*, 26(7), pp.994–1002. Available at: <http://jop.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0269881112439253>.
- Krebs-Thomson, K., Paulus, M.P. & Geyer, M. a., 1998. Effects of hallucinogens on locomotor and investigatory activity and patterns: Influence of 5-HT(2A) and 5-HT(2C) receptors. *Neuropsychopharmacology*, 18(5), pp.339–351.
- Kurrasch-Orbaugh, D.M. et al., 2003. Phospholipase C and Phospholipase A2 Signaling Pathways Have Different Receptor Reserves. *J Pharmacol Exp Ther.*, 304(1), pp.229–237.
- Lakatos, P. et al., 2005. An Oscillatory Hierarchy Controlling Neuronal Excitability and Stimulus Processing in the Auditory Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 94(3), pp.1904–1911. Available at: <http://jn.physiology.org/cgi/content/abstract/94/3/1904>.
- Lawrie, S.M. et al., 2002. Reduced frontotemporal functional connectivity in schizophrenia associated with auditory hallucinations. *Biol Psychiatry*, 51(12), pp.1008–1011. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12062886.
- Lee, K.H. et al., 2003. Synchronous Gamma activity: A review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. *Brain Research Reviews*, 41(1), pp.57–78.
- Lee, S.-H. et al., 2006. Quantitative EEG and low resolution electromagnetic tomography (LORETA) imaging of patients with persistent auditory hallucinations. *Schizophrenia Research*, 83(2-3), pp.111–119. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0920996405005074>.
- Leonard, H.L. & Rapoport, J.L., 1987. Relief of obsessive-compulsive symptoms by LSD and psilocin. *American Journal of Psychiatry*, 144(9), pp.1239–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25216289>.
- Lindenblatt, H. et al., 1998. Quantitation of psilocin in human plasma by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection : comparison of liquid – liquid extraction with automated on-line solid-phase extraction. , 709, pp.255–263.
- Lisman, J.E. et al., 2008. Circuit-based framework for understanding neurotransmitter and risk gene interactions in schizophrenia. *Trends Neurosci.*, 31(5), pp.234–242.
- Liu, R., Jolas, T. & Aghajanian, G., 2000. Serotonin 5-HT(2) receptors activate local GABA inhibitory inputs to serotonergic neurons of the dorsal raphe nucleus. *Brain research*, 873(1), pp.34–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10915808>.
- Lopes da Silva, F., 2009. EEG: Origin and Measurement. In *EEG - fMRI: Physiological Basis, Technique, and Applications*. Springer, pp. 19–39. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-87919-0>.
- Lopes da Silva, F., 2015. Encyclopedia of the Human Brain. In V. S. Ramachandran, ed. *Encyclopedia of the Human Brain*. Academic Press, pp. 147–167.
- Lu, H. et al., 2012. Rat brains also have a default mode network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(10), pp.3979–3984.
- Maleson, N., 1971. Acute Adverse Reactions to LSD in Clinical and Experimental Use in the United Kingdom. *The British Journal of Psychiatry*. Available at: <http://www.lycaeum.org/research/researchpdfs/2133.pdf> [Accessed March 31, 2014].
- von der Malsburg, C. & Schneider, W., 1986. A neural cocktail-party processor. *Biological Cybernetics*, 54(1), pp.29–40.
- Mann, K. et al., 1997. Intra- and interhemispheric electroencephalogram coherence in siblings discordant for schizophrenia and healthy volunteers. *Biological Psychiatry*, 42(8), pp.655–663.
- Marinissen, M.J. & Gutkind, J.S., 2001. G-protein-coupled receptors and signaling networks:

- emerging paradigms. *Trends in pharmacological sciences*, 22(7), pp.368–76. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11431032>.
- Marona-Lewicka, D., Chemel, B.R. & Nichols, D.E., 2009. Dopamine D4 receptor involvement in the discriminative stimulus effects in rats of LSD, but not the phenethylamine hallucinogen DOI. *Psychopharmacology*, 203(2), pp.265–277.
- Marona-Lewicka, D. & Nichols, D.E., 2007. Further evidence that the delayed temporal dopaminergic effects of LSD are mediated by a mechanism different than the first temporal phase of action. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(4), pp.453–461. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305707001918>.
- McCormick, D.A. & Feese, H.R., 1990. Functional implications of burst firing and single spike activity in lateral geniculate relay neurons. *Neuroscience*, 39(1), pp.103–113. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030645229090225S> [Accessed May 4, 2014].
- Menon, V., 2011. Large-scale brain networks and psychopathology: A unifying triple network model. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(10), pp.483–506.
- Merrin, E.L., Floyd, T.C. & Fein, G., 1989. EEG coherence in unmedicated schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*, 25(1), pp.60–66.
- Mokrasch, L.C. & Stevenson, I., 1959. The metabolism of mescaline with a note on correlations between metabolism and psychological effects. *The Journal of Nervous and Mental Disease*.
- Molliver, M.E., 1987. Serotonergic neuronal systems: what their anatomic organization tells us about function. *J Clin Psychopharmacol*, 7, p.3S–23S.
- Moreno, F. a et al., 2006. Safety, tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive-compulsive disorder. *The Journal of clinical psychiatry*, 67(11), pp.1735–1740.
- Morley, B.J. & Bradley, R.J., 1977. Spectral analysis of mouse EEG after the administration of N,N-dimethyltryptamine. *Biological Psychiatry*, 12(6), pp.757–769. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/271513>.
- Muschamp, J.W. et al., 2004. Lysergic acid diethylamide and [-]-2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine increase extracellular glutamate in rat prefrontal cortex. *Brain research*, 1023(1), pp.134–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15364028> [Accessed April 13, 2014].
- Muthukumaraswamy, S.D. et al., 2013. Broadband Cortical Desynchronization Underlies the Human Psychedelic State. *Journal of Neuroscience*, 33(38), pp.15171–15183. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.2063-13.2013>.
- Nagase, Y. et al., 1992. EEG coherence in unmedicated schizophrenic patients: Topographical study of predominantly never medicated cases. *Biological Psychiatry*, 32(11), pp.1028–1034.
- Nakahara, Y. et al., 1996. Detection of LSD and metabolite in rat hair and human hair. *Journal of analytical toxicology*, 20(5), pp.323–329.
- Nekovářová, T. et al., 2014. Bridging disparate symptoms of schizophrenia: a triple network dysfunction theory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(May), p.171.
- Nic Dhonnchadha, B.A., Bourin, M. & Hascoët, M., 2003. Anxiolytic-like effects of 5-HT₂ ligands on three mouse models of anxiety. *Behavioural Brain Research*, 140(1-2), pp.203–214.
- Niedermeyer, E., 1997. Alpha rhythms as physiological and abnormal phenomena. *International Journal of Psychophysiology*, 26(1-3), pp.31–49.
- Nichols, D.E., 2004. Hallucinogens. *Pharmacology & therapeutics*, 101(2), pp.131–81. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725803001657> [Accessed February 24, 2014].

- Nichols, D.E., 2016. Psychedelics. *Pharmacol Rev*, 68(April), pp.264–355.
- Norman, R.M.G. et al., 1997. EEG coherence and syndromes in schizophrenia. *British Journal of Psychiatry*, 170(MAY), pp.411–415.
- Nutt, D.J., King, L.A. & Phillips, L.D., 2010. Drug harms in the UK: A multicriteria decision analysis. *The Lancet*, 376(9752), pp.1558–1565.
- Oberman, L.M., Pineda, J.A. & Ramachandran, V.S., 2007. The human mirror neuron system: A link between action observation and social skills. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 2(1), pp.62–66.
- Ouagazzal, A. et al., 2001. Effect of LSD on prepulse inhibition and spontaneous behavior in the rat. A pharmacological analysis and comparison between two rat strains. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 25(4), pp.565–575.
- Palenicek, T. et al., 2016. Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 69, pp.49–59.
- Páleníček, T. et al., 2008. Mescaline effects on rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. *Psychopharmacology*, 196(1), pp.51–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17922234> [Accessed April 4, 2014].
- Pascual-Marqui, R.D., Michel, C.M. & Lehmann, D., 1994. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *International Journal of Psychophysiology*, 18(1), pp.49–65.
- Passie, T. et al., 2002. The pharmacology of psilocybin. *Addiction biology*, 7(4), pp.357–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14578010> [Accessed March 23, 2014].
- Paxinos, G., 2015. *The Rat Nervous System* Fourth edi., Elsevier Academic Press. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780125476386500304>.
- Paxinos, G. & Watson, C., 2007. *THE RAT BRAIN in stereotaxic coordinates* 6th editio., Elsevier Inc.
- Quednow, B.B., Geyer, M.A. & Halberstadt, A.L., 2009. Serotonin and Schizophrenia. In *Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin*. pp. 585–620.
- Raghavachari, S. et al., 2006. Theta oscillations in human cortex during a working-memory task: evidence for local generators. *Journal of neurophysiology*, 95(3), pp.1630–1638.
- Ray, T.S., 2010. Psychedelics and the human receptorome. *PloS one*, 5(2), p.e9019. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2814854&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed March 23, 2014].
- Riba, J. et al., 2002. Topographic pharmaco-EEG mapping of the effects of the South American psychoactive beverage ayahuasca in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 53(6), pp.613–628.
- Rickli, A. et al., 2015. Receptor interaction profiles of novel N-2-methoxybenzyl (NBOMe) derivatives of 2,5-dimethoxy-substituted phenethylamines (2C drugs). *Neuropharmacology*, 99, pp.546–553.
- Rickli, A. et al., 2016. Receptor interaction profiles of novel psychoactive tryptamines compared with classic hallucinogens. *European Neuropsychopharmacology*, pp.1–11. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924977X16300426>.
- Richards, W., Grof, S. & Goodman, L., 1972. LSD-assisted psychotherapy and the human encounter with death. *Journal of Transpersonal Psychology*, 4, pp.121–150.
- Rinkel, M. et al., 1952. Experimental schizophrenia-like symptoms. *American Journal of Psychiatry*, 108(8), pp.572–578.
- Saito, K. et al., 2004. Determination of psilocin in magic mushrooms and rat plasma by liquid

- chromatography with fluorimetry and electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 527(2), pp.149–156.
- Santana, N. et al., 2004. Expression of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 14(10), pp.1100–1109.
- Seeley, W.W. et al., 2007. Dissociable Intrinsic Connectivity Networks for Salience Processing and Executive Control. *Journal of Neurosciences*, 27(9), pp.2349–2356.
- Seifert, R., 2013. Functional selectivity of G-protein-coupled receptors: From recombinant systems to native human cells. *Biochemical Pharmacology*, 86(7), pp.853–861. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2013.07.029>.
- Selemon, L.D. & Goldman-Rakic, P.S., 1999. The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biological psychiatry*, 45(1), pp.17–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9894571>.
- Sewell, R.A., Halpern, J.H. & Pope, H.G., 2006. Response of cluster headache to psilocybin and LSD. *Neurology*, 66(12), pp.1920–1922.
- Shagass, C., 1966. Effects of LSD on somatosensory and visual evoked responses and on the EEG in man. *Recent Adv Biol Psychiatry*, 9, pp.209–227.
- Shaw, J.C. & O'Connor, K.P., 1978. FIELD DEPENDENCE, LATERALITY AND THE EEG. *Biological Psychology*, 6(015), pp.93–109.
- Shulgin, A., 1991. *PiHKAL - Phenethylamines I Have Known And Loved; A Chemical Love Story*, Transform Press.
- Shulgin, A., 1997. *TiHKAL - Tryptamines I Have Known And Loved; the continuation* 1st ed., Transform Press.
- Schechter, M.D. & Rosecrans, J.A., 1972. Lysergie Acid Diethylamide (LSD) as a Discriminative Cue: Drugs with Similar Stimulus Properties. *Psychopharmacologia*, 26, pp.313–316.
- Schreiber, R., Brocco, M. & Audinot, V., 1995. (1-(2,5-dimethoxy-4 iodophenyl)-2-aminopropane)-induced head-twitches in the rat are mediated by 5-hydroxytryptamine (5-HT) 2A receptors: modulation by novel 5-HT2A/2C antagonists, D1 antagonists and 5-HT1A agonists. *J Pharmacol Exp Ther.*, 273, pp.101–112.
- Siegel, G.J. et al., 2006. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*, Elsevier Academic Press.
- Sierakowiak, A. et al., 2015. Default mode network, motor network, dorsal and ventral basal ganglia networks in the rat brain: Comparison to human networks using resting state-fMRI. *PLoS ONE*, 10(3), pp.1–20.
- Silva, M.T. & Calil, H.M., 1975. Screening Hallucinogenic Drugs: Systematic Study of Three Behavioral Tests*. *Psychopharmacologia*, 171, pp.163–171.
- Sipes, T. a & Geyer, M. a, 1994. Multiple serotonin receptor subtypes modulate prepulse inhibition of the startle response in rats. *Neuropharm*, 33(3-4), pp.441–8.
- Smart, R.G. & Storm, T., 1964. The Efficacy of Lsd in the Treatment of Alcoholism. *Quarterly journal of studies on alcohol*, 25, pp.333–338.
- Smith, R.L., Barrett, R.J. & Sanders-Bush, E., 1999. Mechanism of tolerance development to 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine in rats: down-regulation of the 5-HT 2A , but not 5-HT 2C , receptor. *Psychopharmacologia*, 144(3), pp.248–254. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s002130051000>.
- Speck, L.B., 1958. Electroencephalographic changes in the rat with mescaline intoxication. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 122(2), pp.201–206. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13514608>.
- Stafford, P., 1997. *Encyklopedie psychedelických látek*, VOLVOX GLOBATOR. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Encyklopedie>

- psychedelických-látek#1 [Accessed March 28, 2014].
- Von Stein, A. & Sarnthein, J., 2000. Different frequencies for different scales of cortical integration: From local gamma to long range alpha/theta synchronization. *International Journal of Psychophysiology*, 38(3), pp.301–313.
- Steriade, M. et al., 1993. A novel slow (< 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *The Journal of Neuroscience*, 73(August), pp.3252–3265.
- Steriade, M., 1997. Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 7(6), pp.583–604. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9276182>.
- Steriade, M. & Amzica, F., 1996. Intracortical and corticothalamic coherency of fast spontaneous oscillations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(6), pp.2533–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=39832&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Strassman, R.J., 1984. Adverse reactions to psychedelic drugs. *The Journal of nervous and mental disease*, 172(10), pp.577–595.
- Stuckey, D.E., Lawson, R. & Luna, L.E., 2005. EEG gamma coherence and other correlates of subjective reports during ayahuasca experiences. *Journal of psychoactive drugs*, 37(February 2013), pp.163–178.
- Studerus, E., Gamma, A. & Vollenweider, F.X., 2010. Psychometric Evaluation of the Altered States of Consciousness Rating Scale (OAV). *PLoS ONE*, 5(8), p.e12412. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0012412>.
- Sun, Y. et al., 2011. Gamma oscillations in schizophrenia: Mechanisms and clinical significance. *Brain Research*, 1413, pp.98–114. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899311012364>.
- Swerdlow, N.R. & Geyer, M. a, 1998. Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 24(2), pp.285–301.
- Tauscher, J. et al., 1998. Low frontal electroencephalographic coherence in neuroleptic-free schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*, 44(6), pp.438–447.
- Thatcher, R., Krause, P. & Hrybyk, M., 1986. Associations cortico-corticales et coherence EEG: un modele a deux compartiments. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 64(2), pp.123–143. Available at: http://journals.ohiolink.edu/ejc/article.cgi?issn=00134694&issue=v64i0002&article=123_caaecatm.
- Thatcher, R.W., Biver, C.J. & North, D., 2004. Eeg Coherence and Phase Delays : Comparisons Between Single Reference , Average Reference and Current Source. *Medicine*, 33744(727), pp.1–15. Available at: <http://www.citeulike.org/user/xlli/article/441237>.
- Trulson, M.E., 1986. Dissociations between the effects of hallucinogens on behavior and raphe unit activity in behaving cats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24(2), pp.351–357. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T0N-475JBB-2Y6/2/98d7d195764add22b98ec91648b33fb0>.
- Tylš, F., 2015. Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. *Psychiatrie*, 2, pp.104–112.
- Tylš, F., Páleníček, T. & Horáček, J., 2014. Psilocybin - Summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology*, 24, pp.342–356.
- Uddin, L.Q., 2010. Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain*, 214, pp.655–667.

- Vejmola, Č., 2014. *Psychedelika a mechanismy jejich působení na CNS*. Charles University in Prague.
- Vogt, M., Gunn, C.G. & Sawyer, C.H., 1957. Electroencephalographic effects of intraventricular 5-HT and LSD in the cat. *Neurology*, 7(8), pp.559–566. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13451892>.
- Vollenweider, F.X. et al., 1997. Positron emission tomography and fluorodeoxyglucose studies of metabolic hyperfrontality and psychopathology in the psilocybin model of psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 16(5), pp.357–372. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0893133X96002461>.
- Vollenweider, F.X. et al., 1998. Psilocybin induces psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. , 9(17), pp.3897–3902.
- Vollenweider, F.X. & Geyer, M. a., 2001. A systems model of altered consciousness: Integrating natural and drug-induced psychoses. *Brain Research Bulletin*, 56(5), pp.495–507. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11750795>.
- Vollenweider, F.X. & Komater, M., 2010. The neurobiology of psychedelic drugs: implications for the treatment of mood disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(9), pp.642–651. Available at: <http://www.nature.com/nrn/journal/v11/n9/abs/nrn2884.html> \n <http://www.nature.com/nrn/journal/v11/n9/full/nrn2884.html> \n <http://www.nature.com/nrn/journal/v11/n9/pdf/nrn2884.pdf>.
- Wallenstein, G. V, 1994. Simulation of GABAB-receptor-mediated K⁺ current in thalamocortical relay neurons: tonic firing, bursting, and oscillations. *Biological cybernetics*, 71(3), pp.271–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7918804>.
- Winek, C.L., Collom, W.D. & Bricker, J.D., 1981. A death due to 4-bromo-2,5-dimethoxyamphetamine. *Clin.Toxicol.*, 18(3), pp.267–271.
- Winterer, G. et al., 2001. An association between reduced interhemispheric EEG coherence in the temporal lobe and genetic risk for schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 49(1-2), pp.129–143. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11343872>.
- Wittmann, M. et al., 2007. Effects of psilocybin on time perception and temporal control of behaviour in humans. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 21(1), pp.50–64.
- Wolbach, A.B., Isbell, H. & Miner, E.J., 1962. Cross Tolerance between Mescaline and LSD-25. *Psychopharmacologia*.
- Wood, J., Kim, Y. & Moghaddam, B., 2012. Disruption of Prefrontal Cortex Large Scale Neuronal Activity by Different Classes of Psychotomimetic Drugs. *J Neurosci*, 32(164), pp.3022–3031.

[i] – <https://en.wikipedia.org/wiki/Electroencephalography>

9. Přílohy

9.1. EEG nálezy schizofrenních pacientů

Z hlediska spektrální analýzy EEG například (Gerez & Tello 1995) zjistili, že pacienti s negativní symptomatologií vykazují zvýšení výkonu theta a alfa aktivity ve frontálních oblastech. Pacienti s pozitivní symptomatologií pak typicky vykazovali dysfunkci levého temporálního laloku a silný pokles temporální koherence. Nárůst pomalé EEG aktivity u schizofrenních pacientů (především ve frontálních oblastech) prokázala také řada dalších studií, např. (Karson et al. 1987; Kahn et al. 1993; Harris et al. 2006). Novější studie prokázala zvýšení v alfa 1 a delta pásnu a snížení v alfa 2 u pacientů s pozitivní symptomatologií (John et al. 2009). Kromě pomalých frekvencí jsou nalézány změny i ve vysokých frekvenčních pásmech. Například (Lee et al. 2006) prokázali nárůst výkonu v betě u halucinujících schizofreniků oproti nehalucinujícím. Bylo ovšem navrženo, že disturbance v gama aktivitě dokáží vysvětlit mnohé natolik heterogenní příznaky schizofrenie (Gallinat et al. 2004; Haig et al. 2000; Sun et al. 2011). Jak bylo probráno v kapitole 2.3.3., je gama aktivita zodpovědná za vyšší úroveň zpracování informací a kognitivní funkce vůbec. Její narušená regulace a snížená koherence, nejčastější nález u schizofrenních pacientů, tak může odpovídat za kognitivní změny pro toto onemocnění typické (shrnutí v (Lee et al. 2003) a (Sun et al. 2011)).

V případech EEG koherencí jsou data značně nehomogenní. Merrin a kol. zjistili vyšší intra- i inter-hemisferální koherence v pomalovlnné části spektra u nemedikovaných schizofreniků (Merrin et al. 1989). Také Nagase a kol. popsali nárůst inter-hemisferálních koherencí v delta, ale i beta pásmech (Nagase et al. 1992). Mann a kol. srovnali nemedikované nemocné a jejich sourozence vůči kontrolní skupině a opět prokázali vyšší intra-hemisferální koherence (Mann et al. 1997). Na druhou stranu řada prací prezentuje opačné výsledky. Brunovský a kol. popsali korelaci mezi sníženými fronto-temporálními koherencemi a zvýšeným metabolismem mediotemporálních a limbických struktur (Brunovský et al. 2004). Snížení fronto-temporálních a inter-hemisferálních koherencí u pacientů se schizofrenií prokázala i celá řada dalších studií (Gerez & Tello 1995; Norman et al. 1997; Tauscher et al. 1998; Winterer et al. 2001; Lawrie et al. 2002). Ford a kol. popsali tuto sníženou konektivitu u schizofreniků během verbálního projevu (Ford et al. 2002). Z hlediska EEG koherencí byla tedy opakovaně prokázána funkční diskonekce mezi frontálními a temporálními kortikálními oblastmi, a to jak intra-hemisferální (fronto-temporální), tak inter-hemisferální (fronto-frontální a temporo-temporální).

9.2. Terapeutické využití

V prvních fázích výzkumu se LSD experimentálně využívalo k modelování psychózy, od konce 50. let se začalo pracovat i s jeho terapeutickým potenciálem. Na mnoha evropských klinikách byla prováděna tzv. „psycholytická terapie“, kdy byly pacientům podávány v několika sezeních v pravidelných intervalech středně silné dávky LSD. Své zážitky poté sdělovali ve skupinových diskuzích, kreslením, i malbou. Česká republika nebyla výjimkou, dokonce disponovala největší léčebnou využívající LSD v Evropě (Hausner 2009). V USA byly podávány velmi vysoké dávky při „psychedelické terapii“ – těmi se vyvolala mysticko-náboženská zkušenost, která pak měla sloužit jako počáteční bod pro restrukturalizaci pacientovy osobnosti. Tato metoda byla zvláště úspěšná, především v případě neurotiků a alkoholiků (Smart & Storm 1964). V psychoanalýze se pokoušeli psychiatři a psychoterapeuti pomocí LSD zpřístupnit nevědomé vnitřní konflikty. Dokonce se podařilo vyvolat vzpomínky z raného dětství, a to i na období porodu (Dyck 2005; Baker 1964; Johnson 2015; Grof 1980). Právě na prožitky a práci s nimi (koncept tzv. bazálních perinatálních matric) navázal nový psychologický směr transpersonální psychologie konceptualizovaný Stanislavem Grofem. Psychedelika byla úspěšně využita u umírajících pacientů a pacientů v terminálních fázích neléčitelných nemocí. Pod jejich účinkem se byli schopni lépe vyrovnat se situací, do které se dostali a docházelo k zásadnímu zmírnění bolesti i úzkosti (Richards et al. 1972; Grob et al. 2011). Současné studie naznačují vhodnost využití k léčbě deprese (Gasser et al. 2015; Baumeister et al. 2014; Vollenweider & Kometer 2010), obsedantně kompulzivních poruch (Brandrup & Vanggaard 1977; Moreno et al. 2006; Leonard & Rapoport 1987), cluster headaches (Sewell et al. 2006) a opětovně dokládají možnost uplatnění v léčbě závislostí (Krebs & Johansen 2012; Bogenschutz & Pommy 2012; Bogenschutz et al. 2015). Účinnost psychedelik v těchto klinických studiích by mohla být opět vysvětlena teorií entropického mozku, jako dočasné zvýšení entropie psychedeliky navozená (Carhart-Harris et al. 2014). Psychedelický stav, který vyvolávají by se tak jevil jako nedílná součást terapie (Tylš 2015): „dočasný chaos může být procesem k ustanovení nové rovnováhy“.

9.3. Rizika

Smrtelná dávka pro potkany je pro nejméně potentní halucinogen meskalin asi 60krát vyšší než dávka účinná, pro psilocybin 640krát, pro LSD 4800krát (Tylš et al. 2014). V případě LSD nebylo doposud zaznamenáno úmrtí v důsledku předávkování, a to ani v případě záměny krystalického LSD za kokain, kdy byla aplikována dávka několika miligramů. (Hospitalizováno 8 lidí, 5 v bezvědomí, u všech těžké dýchání, lehké vnitřní krvácení, horečka a zvracení. S podpůrnou intenzivní péčí se všichni bez následků zotavili (Klock et al. 1974). Pro psilocybin je znám jediný sporný případ úmrtí v důsledku předávkování (muž, požil syrové *P. semilanceata* několikrát v průběhu dne, celková odhadovaná dávka hub 150 mg) (Gerault & Picart 1996). DOB je látka mnohem toxičtější – byl zaznamenán případ úmrtí po požití 30 mg (Wineck et al. 1981) a úmrtí v důsledku předávkování bylo zaznamenáno i v ČR (Balíková 2005). Rizika užití psychedelik jsou spojená spíše s jejich psychickými účinky díky ztrátě kontaktu s realitou. Nejnebezpečnějším možným důsledkem je stav všeobecně známý jako „bad trip“, který je charakterizován náhlou úzkostí a strachem a může se vystupňovat ve znepokojující stavy paniky, paranoi, kompletní ztrátu vlastní identity, pocity teroru a uvěznění (Grof 1980). Smrtné případy byly zaznamenány pouze při nehodách, kdy byl dotyčný přesvědčen o svých nadlidských schopnostech, například schopnosti létat (Maleson 1971; Strassman 1984; Cohen 1960). V roce 2015 bylo na vzorku 135 000 lidí prokázáno, že užívání psychedelik (na rozdíl od např. marihuany) nezvyšuje pravděpodobnost rozvoje jakýchkoliv psychických problémů či nemocí, ani nemůže být spojováno se sebevražednými sklony (Johansen & Krebs 2015). V žebříčku multikriteriálního hodnocení nebezpečnosti (jedinci i společnosti) dvaceti nejčastěji zneužívaných drog se psychedelika nachází na posledních místech (Nutt et al. 2010). V důsledku dlouhodobého užívání se mohou ojediněle vyskytnout tzv. „flashbacky“ (letmý návrat podobného stavu jako po požití drogy) nebo HPPD – hallucinogen persisting perception disorder – porucha přetrvávající po požití halucinogenu, většinou vizuální: geometrické halucinace, falešné vnímání pohybu v periferiích zorného pole, záblesky barev, intenzivnější barvy, stopy snímků pohybujících se objektů, pozitivní po-obrazy, hala kolem objektů atp. (Halpern & Pope 2002).

9.4. Statistika

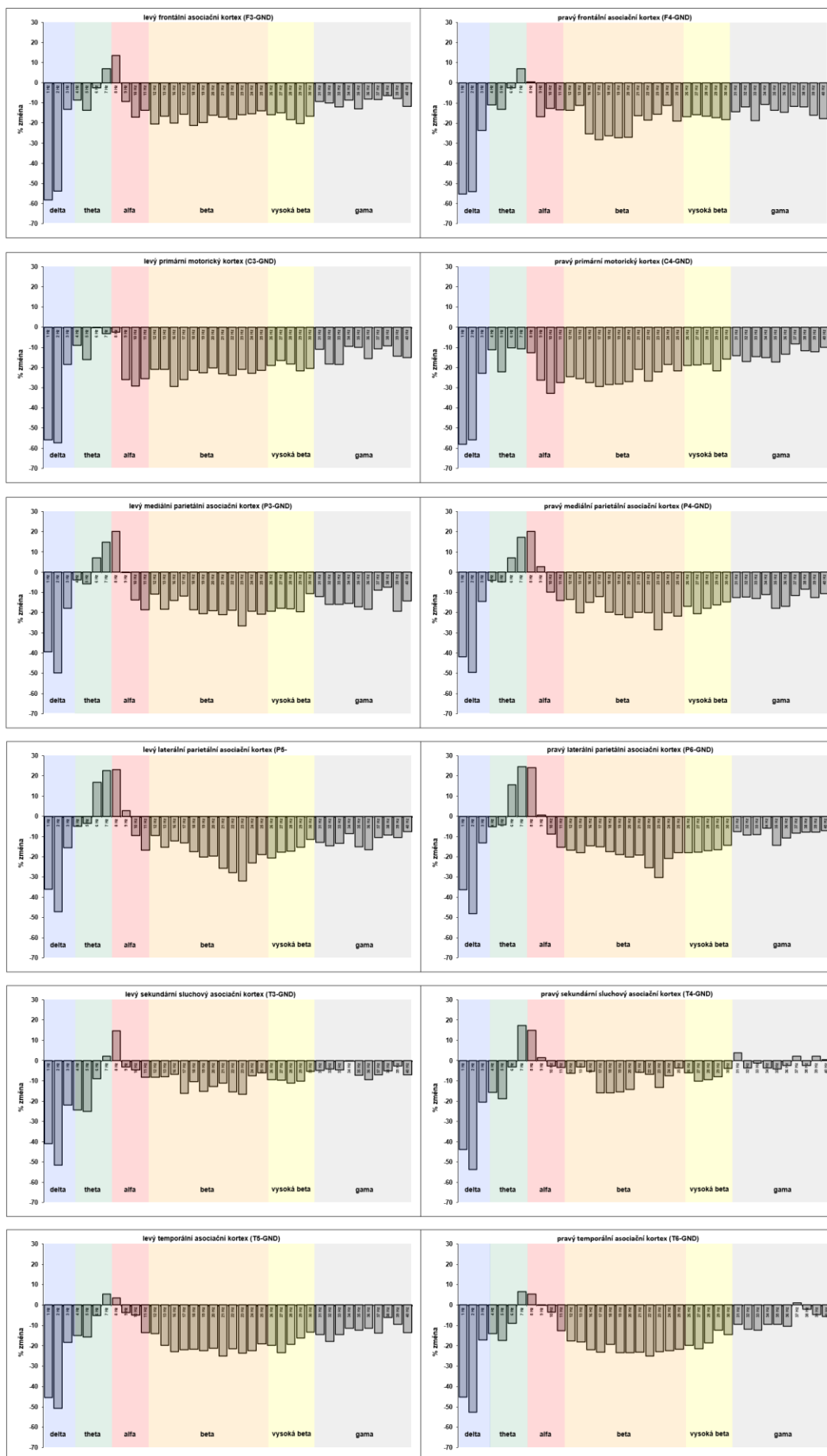
Príloha pro kapitolu 5.2. – Srovnání účinků všech látek v jednotlivých časech

ANCOVA + post hoc Newman-Keuls						< 0,05						< 0,01						< 0,001					
20-30						50-60						80-90											
delta	Současný efekt: F(4, 42)=1,8201, p=0,14292					delta	Současný efekt: F(4, 42)=1,0909, p=0,37344					delta	Současný efekt: F(4, 42)=2,4040, p=0,06472										
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5						
kontrola		0,596	0,960	0,487	0,617	kontrola		0,758	0,786	0,783	0,792	kontrola		0,925	0,165	0,801	0,849						
psilocin	0,596		0,360	0,348	0,324	psilocin	0,758		0,766	0,722	0,834	psilocin	0,925		0,086	0,884	0,956						
LSD	0,960	0,360		0,735	0,755	LSD	0,786	0,766		0,674	0,693	LSD	0,165	0,086		0,112	0,188						
meskalin	0,487	0,348	0,735		0,811	meskalin	0,783	0,722	0,674		0,787	meskalin	0,801	0,884	0,112		0,658						
DOB	0,617	0,324	0,755	0,811		DOB	0,792	0,834	0,693	0,787		DOB	0,849	0,956	0,188	0,658							
theta	Současný efekt: F(4, 42)=8,0840, p=0,00006					theta	Současný efekt: F(4, 42)=3,5186, p=0,01450					theta	Současný efekt: F(4, 42)=1,2365, p=0,31011										
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5						
kontrola		0,003	0,079	0,727	0,010	kontrola		0,000	0,003	0,018	0,068	kontrola		0,016	0,199	0,141	0,085						
psilocin	0,003		0,133	0,004	0,000	psilocin	0,000		0,037	0,012	0,002	psilocin	0,016		0,202	0,271	0,505						
LSD	0,079	0,133		0,069	0,000	LSD	0,003	0,037		0,391	0,168	LSD	0,199	0,202		0,651	0,383						
meskalin	0,727	0,004	0,069		0,011	meskalin	0,018	0,012	0,391		0,335	meskalin	0,141	0,271	0,651		0,995						
DOB	0,010	0,000	0,000	0,011		DOB	0,068	0,002	0,168	0,335		DOB	0,085	0,505	0,383	0,995							
alpha	Současný efekt: F(4, 42)=5,8906, p=0,00074					alpha	Současný efekt: F(4, 42)=2,5405, p=0,05378					alpha	Současný efekt: F(4, 42)=1,6783, p=0,17300										
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5						
kontrola		0,001	0,033	0,109	0,339	kontrola		0,000	0,043	0,063	0,064	kontrola		0,007	0,809	0,264	0,174						
psilocin	0,001		0,123	0,038	0,000	psilocin	0,000		0,056	0,056	0,036	psilocin	0,007		0,009	0,091	0,196						
LSD	0,033	0,123		0,336	0,005	LSD	0,043	0,056		0,681	0,680	LSD	0,809	0,009		0,253	0,121						
meskalin	0,109	0,038	0,336		0,033	meskalin	0,063	0,056	0,681		0,672	meskalin	0,264	0,091	0,253		0,979						
DOB	0,339	0,000	0,005	0,033		DOB	0,064	0,036	0,680	0,672		DOB	0,174	0,196	0,121	0,979							
beta	Současný efekt: F(4, 42)=5,9091, p=0,00073					beta	Současný efekt: F(4, 42)=7,0400, p=0,00020					beta	Současný efekt: F(4, 42)=5,8425, p=0,00079										
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5						
kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000	kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000	kontrola		0,000	0,001	0,000	0,000						
psilocin	0,000		0,437	0,042	0,038	psilocin	0,000		0,403	0,412	0,605	psilocin	0,000		0,311	0,913	0,575						
LSD	0,000	0,437		0,092	0,124	LSD	0,000	0,403		0,756	0,908	LSD	0,001	0,311		0,178	0,188						
meskalin	0,000	0,042	0,092		0,783	meskalin	0,000	0,412	0,756		0,553	meskalin	0,000	0,913	0,178		0,780						
DOB	0,000	0,038	0,124	0,783		DOB	0,000	0,605	0,908	0,553		DOB	0,000	0,575	0,188	0,780							
high beta	Současný efekt: F(4, 42)=3,9939, p=0,00779					high beta	Současný efekt: F(4, 42)=9,3182, p=0,00002					high beta	Současný efekt: F(4, 42)=9,6710, p=0,00001										
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5						
kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000	kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000	kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000						
psilocin	0,000		0,846	0,298	0,087	psilocin	0,000		0,867	0,505	0,337	psilocin	0,000		0,739	0,653	0,508						
LSD	0,000	0,846		0,197	0,077	LSD	0,000	0,867		0,573	0,495	LSD	0,000	0,739		0,773	0,517						
meskalin	0,000	0,298	0,197		0,362	meskalin	0,000	0,505	0,573		0,879	meskalin	0,000	0,653	0,773		0,616						
DOB	0,000	0,087	0,077	0,362		DOB	0,000	0,337	0,495	0,879		DOB	0,000	0,508	0,517	0,616							
gamma	Současný efekt: F(4, 42)=2,6824, p=0,04438					gamma	Současný efekt: F(4, 42)=5,5958, p=0,00105					gamma	Současný efekt: F(4, 42)=8,3995, p=0,00005										
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5						
kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000	kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000	kontrola		0,000	0,000	0,000	0,000						
psilocin	0,000		0,334	0,365	0,013	psilocin	0,000		0,919	0,741	0,735	psilocin	0,000		0,523	0,383	0,382						
LSD	0,000	0,334		0,697	0,076	LSD	0,000	0,919		0,527	0,628	LSD	0,000	0,523		0,876	0,973						
meskalin	0,000	0,365	0,697		0,071	meskalin	0,000	0,741	0,527		0,776	meskalin	0,000	0,383	0,876		0,650						
DOB	0,000	0,013	0,076	0,071		DOB	0,000	0,735	0,628	0,776		DOB	0,000	0,382	0,973	0,650							

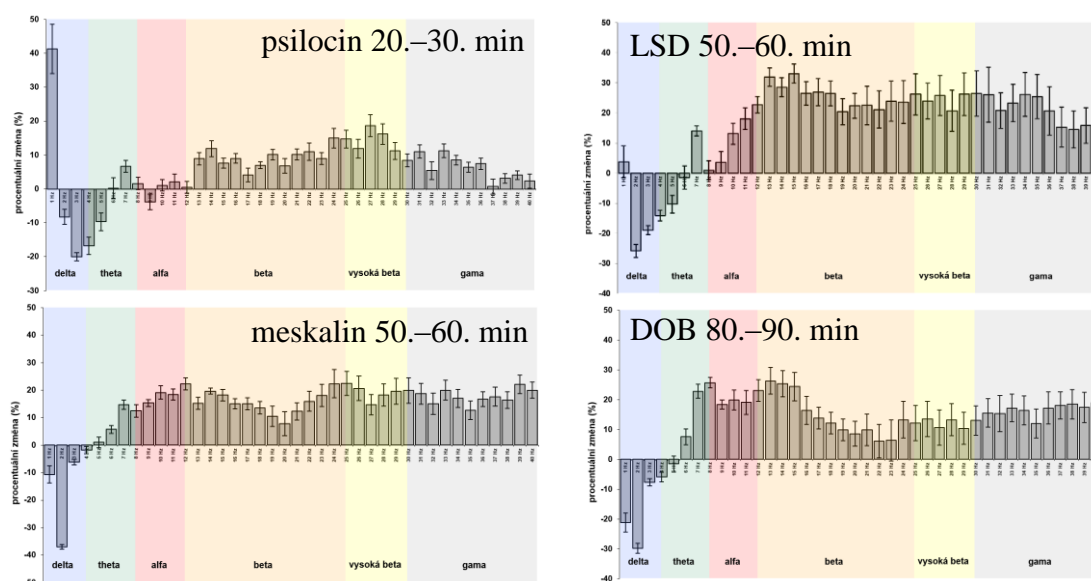
Tab. 9.1.: Statistické hodnoty ANCOVA s p hodnotami post hoc testů pro všechny časy i pásma

9.5. Procentuální rozdíl spektrálního výkonu po podání DOB vs. baseline

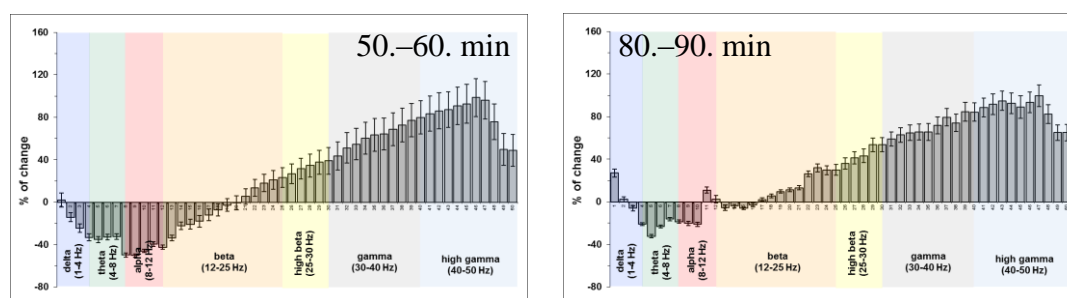
v čase 20–30 min po podání dávky 5 mg/kg vyneseny pro každou elektrodu



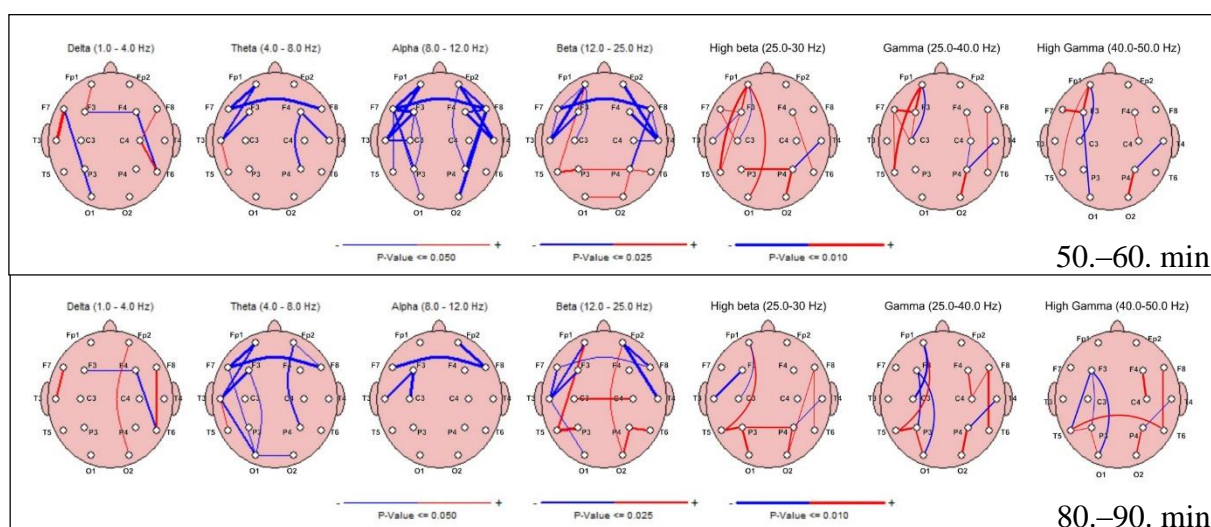
9.6. Humánní QEEG po podání psilocybinu



Procentuální rozdíl rel. spektrálního výkonu po podání psilocinu, LSD, meskalinu a DOB potkanům; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.

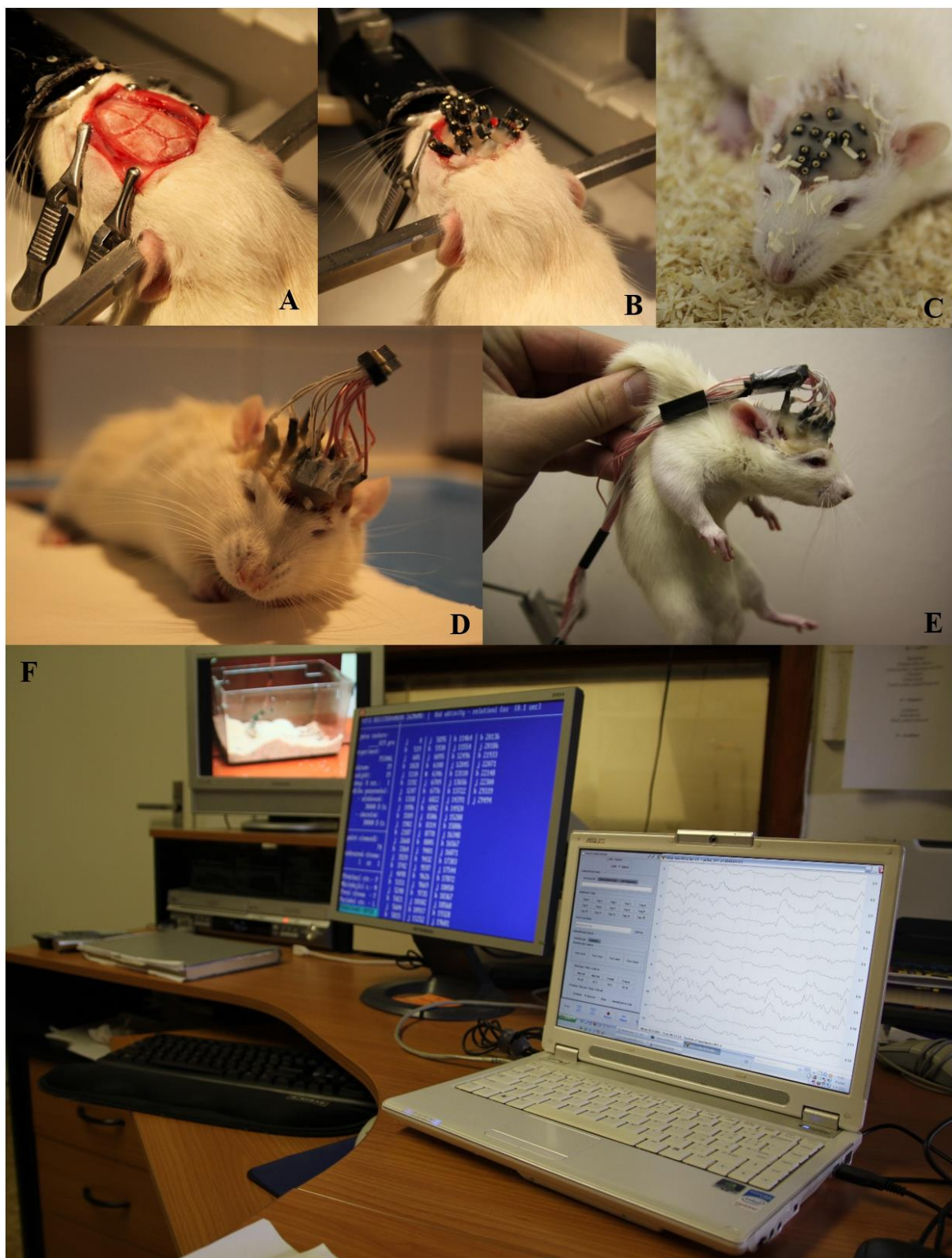


Procentuální rozdíl rel. spektrálního výkonu po podání psilocybinu vs. baseline v dávce 0,26 mg/kg lidem; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.



EEG koherence (lidi), psilocybin v aplikaci 0,26 mg/kg vs. baseline; úbytek modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legendu

9.7. Obrazová příloha



A: obnažení lebky a oškrábání periostu; B: zasazení pinů do vyvrtaných děr; C: piny zalité zubním cementem Dentalonem; D: připevnění konektoru; E: spojení konektoru s nahrávacím setem, F: fotografie nahrávací místnosti, zprava: počítač nahrávající EEG, počítač k zaznamenávání aktivity, monitor přenášející obraz potkana.

9.8. Poster z Interdisciplinary Conference on Psychedelics Research



TRANSLATIONAL VALIDITY OF THE SEROTONERGIC MODEL OF PSYCHOSIS IN RATS

Čestmír Vejmla, F. Tylš, M. Lipski, L. Kadeřábek, T. Páleníček

National Institute of Mental Health, CZEPS, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic

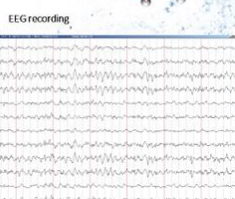
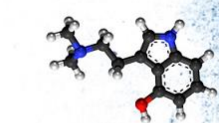
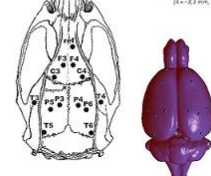


Introduction

It has been proposed that serotonergic hallucinogens can be used to model some aspects of psychosis. The representatives of the two main classes of these compounds – tryptamines (psilocin, LSD) and phenethylamines (mescaline, 2C-B) were used as pharmacological models of psychosis in rats. The psychotic state is characterized by impaired processing of information, which is reflected by a decrement of functional connectivity according to the disconnection theory of schizophrenia. In this study, we measured quantitative EEG in freely moving rats after the administration of serotonergic hallucinogens. This technique enabled us to analyze cortical EEG power and to perform a coherence analysis – a functional connectivity measure.

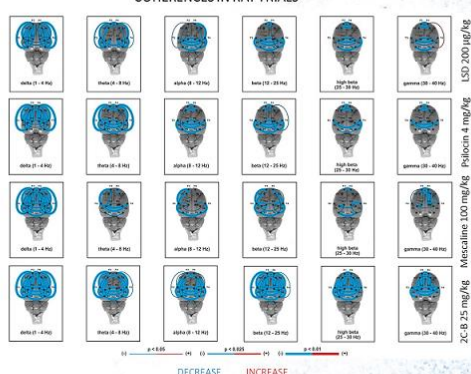
Stereotactic coordinates on rat skull and brain

F3/F4 – frontal association cortex
(A = 5.0 mm, L = 2.0 mm)
C3/C4 – primary motor cortex
(A = 2.2 mm, L = 0.5 mm)
P3/P4 – medial parietal assoc. Cortex
(A = 2.0 mm, L = 0.5 mm)
T3/T4 – secondary auditory cortex
(A = 2.0 mm, L = 0.5 mm)
P5/P6 – lateral parietal assoc. Cortex
(A = 2.5 mm, L = 0.5 mm)
T5/T6 – temporal association cortex
(A = 2.5 mm, L = 0.5 mm)



EEG coherence – a quantitative measure of similarity between two EEG signals recorded over different brain regions (calculated as square of the cross-spectrum divided by the product of the two auto-spectra for each of electrode pairs)

COHERENCES IN RAT TRIALS



Results

EEG power spectral analysis revealed a general decrease in absolute EEG power in all frequency bands in all drug conditions except the theta band in the case of 2C-B. After mescaline, the decrease was less pronounced and occurred mainly in the delta band, while the effects of psilocin and LSD were distributed more widely across the spectrum. Relative power spectral analysis, used to compare rat-human differences, revealed decrease in theta band in rats.

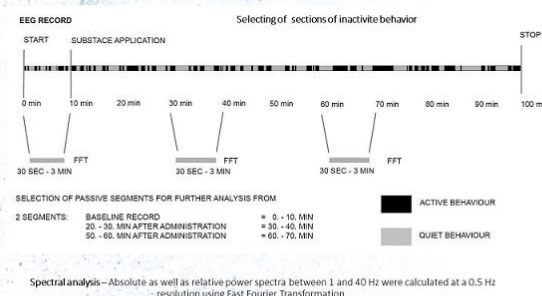
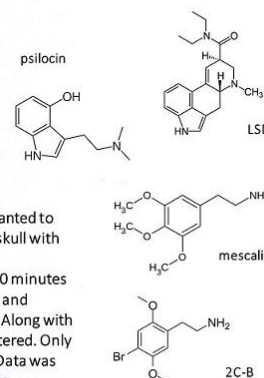
The inter- and intra-hemispherical coherences were decreased with the maximum in the delta (all substances) and theta band (psilocin and LSD). The decrement of inter-hemispherical coherences was observed in all frequency bands.

Conclusion

Serotonergic drugs produce profound electrophysiological changes in the rat brain characterized generally by significant decrease in absolute spectral power (local desynchronization) and decrease in EEG coherences (disconnection of long projections). The results also revealed some differences between the respective EEG patterns of tryptamine and phenethylamine hallucinogens. In the case of psilocin, relative spectral analysis revealed a decrease in the activity of theta, which is the basic EEG activity of rat, as well as increases in higher frequency bands. Similar pattern was observed in human model using psilocybin (as seen in another poster from our group by dr. Páleníček), while the decrease was in the alpha band (basic activity of humans) and increases were more pronounced in gamma band. The decrement of functional connectivity was found both in rats and humans and is a common finding in such patients with acute psychosis, indicating validity of the animal model. The analysis of the signal corresponding to rat behavioral inactivity has a translational validity as a resting state EEG recording model in humans.

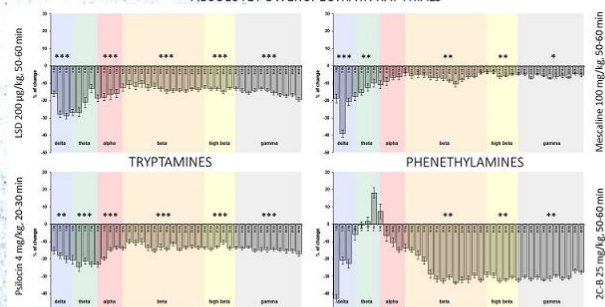
Methods

Fourteen electrodes were stereotactically implanted to the surface of the rat's cortex and fixed to the skull with dental cement. EEG was recorded 7 days after implantation. Initially, a baseline recording of 10 minutes was obtained, the substance was administered and registration continued for another 90 minutes. Along with EEG recording, behavioral activity was co-registered. Only signals corresponding to inactivity were used. Data was performed in Neuroguide Deluxe v.2.6. software.

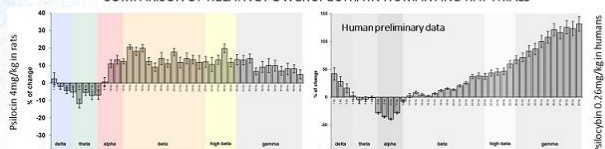


Spectral analysis – Absolute as well as relative power spectra between 1 and 40 Hz were calculated at a 0.5 Hz resolution using Fast Fourier Transformation

ABSOLUTE POWER SPECTRA IN RAT TRIALS



COMPARISON OF RELATIVE POWER SPECTRA IN HUMAN AND RAT TRIALS



Relative power spectra – The percentage of power in any band compared with the total power in the EEG

References

1. Geyer, M.A. and Vollenweider, F.X., Serotonin research: contributions to understanding psychosis, Trends Pharmacol Sci (2008).
2. Carhart-Harris et al., Neural correlates of psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin, Proc Natl Acad Sci USA (2012).
3. Muthukumaraswamy et al., Broadband cortical desynchronization underlies the human psychedelic state, J Neurosci (2013).
4. Tylš, F. et al., Psilocybin – summary of knowledge and new perspectives, Eur Neuropsychopharmacol (2014)



This study was supported by the projects IGA MHCR NT/13897, "National Institute of Mental Health (NIMH-CZ)", grant number ED2.1.00/03.0078, by the European Regional Development Fund and CZEPS.



National Institute of Mental Health (NIMH-CZ) project, registration number CZ.1.002.1.0003.0078, is funded by Operational Programme Research and Development for Innovation Priority Axis 2 Regional R&D Centres, Area of support 2.1 - Regional R&D Centres



EUROPEAN UNION
EUROPEAN REGIONAL DEVELOPMENT FUND
INVESTING IN YOUR FUTURE

